N° d'ordre : 303

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Anne-Marie MOURA

Contribution à l'étude de quelques propriétés physiologiques de la calcitonine : mise en évidence de l'interaction "thyroxine-calcitonine" au niveau de l'os.

Soutenue le 19 septembre 1970, devant la Commission d'Examen :

M. M. LAFON, Professeur ..... *Président*

M. J.-J. BOUNHIOL, Professeur .....

M^lle H. DUTRIEU, Professeur ..... } *Examinateurs*

M. P. BLANQUET, Professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux .....

M. A. BAGHDIANTZ, Professeur à l'Université de Téhéran, Professeur associé à l'Université de Bordeaux .....

— 1970 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547320_0019

N° d'ordre : 303

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Anne-Marie MOURA

Contribution à l'étude de quelques propriétés physiologiques de la calcitonine : mise en évidence de l'interaction "thyroxine-calcitonine" au niveau de l'os.

Soutenue le 19 septembre 1970, devant la Commission d'Examen :

M. M. LAFON, Professeur ..... *Président*

M. J.-J. BOUNHIOL, Professeur .....

M^lle H. DUTRIEU, Professeur .....

M. P. BLANQUET, Professeur à la Faculté de Médecine de Bordeaux ..... } *Examinateurs*

M. A. BAGHDIANTZ, Professeur à l'Université de Téhéran, Professeur associé à l'Université de Bordeaux.....

— 1970 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A LA MEMOIRE DE MON PERE,

A MA MERE,

A MA FAMILLE,

A MES AMIS.

Avant de commencer l'exposé de ce travail, nous voudrions associer dans un même hommage respectueux, nos Maîtres de la Faculté des Sciences à qui nous devons notre formation, et ceux de la Faculté de Médecine qui nous ont initiée à la Recherche.

Nous témoignant sa confiance en nous accueillant dans son Laboratoire, Monsieur le Professeur BLANQUET nous a permis de nous diriger vers la recherche scientifique. Nous inculquant tant sur le plan humain que professionnel les exigences requises, il nous a toujours guidée avec sollicitude dans un domaine qui lui tient à cœur et permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Qu'il trouve ici exprimés notre profonde gratitude et notre respectueux attachement.

En nous proposant cette étude, Monsieur le Professeur BAGHDIANTZ nous a confié un sujet qui lui est cher. Il a dirigé notre travail nous permettant de le mener à bien par ses conseils et ses encouragements.

Que cette thèse soit le témoignage de notre respectueux attachement et de notre profonde reconnaissance.

C'est toutefois un honneur pour nous d'être jugée par nos Maîtres de la Faculté des Sciences :

Monsieur le Professeur LAFON qui nous accorda si généreusement sa confiance tout au long de nos études, a bien voulu accepter de présider notre Jury de thèse.

Nous tenons à lui exprimer nos remerciements respectueux pour les conseils qu'il nous a si généreusement donnés et pour l'accueil toujours bienveillant qu'il nous a réservé.

Monsieur le Professeur BOUNHIOL dont l'enseignement détermina notre orientation vers la biologie, a accepté de juger notre travail.

Nous lui demandons d'agréer l'expression de notre très respectueuse reconnaissance.

Mademoiselle le Professeur DUTRIEU qui nous a initiée à la physiologie expérimentale et qui nous honore aujourd'hui en siégeant dans notre Jury de thèse.

Nous voudrions lui témoigner notre admiration et tous nos remerciements.

Nous voudrions également exprimer notre reconnaissance aux Maîtres qui ont contribué à notre formation en nous accueillant dans leur service :

Monsieur le Professeur GAILLARD de l'Université de LEIDEN nous a initiée à la culture de tissus.

Qu'il trouve renouvelée ici l'expression de nos remerciements respectueux.

Nous ne saurions oublier l'accueil chaleureux que nous avons trouvé auprès de tous ceux de son laboratoire et nous leur exprimons toute notre amitié.

Monsieur le Professeur MEUNIER de la Faculté de Médecine de BORDEAUX nous a révélé les attraits de l'histologie et de la biologie expérimentale.

Nous sommes heureuse de lui témoigner par ce travail l'expression de notre vive gratitude et de nos remerciements pour tous les enseignements qu'il nous a si généreusement dispensés.

Madame CROIZET de l'U. 53, nous a initiée aux techniques des radioisotopes et à leur utilisation dans la recherche biologique.

Nous lui adressons tous nos remerciements.

Enfin l'amitié et la collaboration de toute l'équipe de chercheurs et de techniciens de l'U. 53 de l'I.N.S.E.R.M. nous a permis d'atteindre le but que nous nous étions assigné.

Qu'ils soient assurés de notre profonde gratitude et plus particulièrement Messieurs G. COLLIGNON, A. BARET, B. DUPUY, S. JOTHY, B. BASSE-CATHALINAT, C. BACQUEY.

Que Mesdemoiselles C. BETHOUS ET M.O. LAMOURET, dont la compétence nous fut aussi précieuse par la sympathie qu'indispensable pour la réalisation de ce travail, croient à notre très sincère reconnaissance.

A Madame et Monsieur F. ROUAIS, nous sommes heureuse d'exprimer notre amitié reconnaissante.

Le Professeur R.J. SCHLUETER des Laboratoires ARMOUR PHARMACEUTICAL COMPANY. KANKAKEE - ILLINOIS, nous a fourni la calcitonine porcine utilisée dans ce travail, nous lui exprimons tous nos remerciements.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

PREMIERE PARTIE

POSITION ACTUELLE DU PROBLEME

I - LA CALCITONINE 5

II - LA THYROXINE 36

III - OBJET et PLAN de RECHERCHES 41

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL ET METHODES

I - ANIMAUX D'EXPERIMENTATION 45

II - TECHNIQUES OPERATOIRES 47

III - LES BILANS CALCIQUES 49

IV - ESSAIS BIOLOGIQUES 59

V - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES 62

VI - CULTURE DE TISSUS 65

TROISIEME PARTIE

RESULTATS EXPERIMENTAUX

ETUDE SUR L'ORIGINE DE LA CALCITONINE - INFLUENCE DE L'HYPOPHYSE SUR SA SECRETION.

- ORIGINE DE LA CALCITONINE 70

- INFLUENCE DE L'HYPOPHYSE SUR LA SECRETION DE CALCITONINE 74

ETUDE DU METABOLISME CALCIQUE CHEZ LE RAT HYPOTHYROIDIEN. - INFLUENCE DE LA THYROXINE SUR L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE LA CALCITONINE

- MISE EN EVIDENCE DE L'IMPORTANCE DE LA THYROXINE DANS LE METABOLISME DU CALCIUM AU MOYEN DU BILAN CALCIQUE au ^{45}Ca. 81

A) - ETUDE DANS LE CAS D'UNE HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR CARENCE EN IODE 81

B) - ETUDE DANS LE CAS D'UNE HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR UN ANTITHYROIDIEN DE SYNTHESE 99

- MISE EN EVIDENCE DU ROLE DE LA THYROXINE SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DE LA CALCITONINE 110

A) - L'HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR CARENCE EN IODE 110

B) - L'HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR UN ANTITHYROIDIEN DE SYNTHESE 117

ETUDE DES VARIATIONS STRUCTURALES ET FONCTIONNELLE DES CELLULES C. AU COURS DE L'HYPOTHYROIDIE EXPERIMENTALE CHEZ LE RAT : LEUR RAPPORT AVEC L'ACTIVITE PERIPHERIQUE DE LA CALCITONINE

I - HISTOLOGIE DU FOLLICULE THYROIDIEN CHEZ LE RAT TRAITE AU PTU. 131

II - HISTOLOGIE DU FOLLICULE THYROIDIEN CHEZ LE RAT CARENCE EN IODE 133

III - LES CELLULES C. - ETUDE AU COURS DE L'HYPOTHYROIDIE 134.

ETUDE "IN VITRO" DE L'INFLUENCE DE LA THYROXINE SUR L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE LA CALCITONINE

A) - INFLUENCE DE LA PARATHORMONE ET DE LA CALCITONINE SUR LA RESORPTION OSSEUSE "IN VITRO". 155

B) - ETUDE DE LA CORRELATION D'ACTION DE LA THYROXINE ET DE LA CALCITONINE "IN VITRO" 159

CONCLUSIONS 164

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

L'homéostasie du milieu intérieur est un impératif de survie pour tout vertébré terrestre. Ce n'est pas un état d'équilibre statique mais un état d'équilibre dynamique devant se réaliser à chaque instant.

Parmi les différents constituants de ce milieu, le calcium est un des plus stables bien qu'il soit sollicité par de nombreux processus vitaux.

La découverte des glandes parathyroïdes par REMAK (28), puis celle de leur principe actif par HANSON (96) et COLLIP (45), en 1924-1925, parut résoudre le problème de la régulation hormonale de la calcémie.

Cependant, malgré l'hypothèse d'un "Feed-back" négatif émis par Mac-LEAN et URIST en 1957 (144), il devint rapidement difficile d'admettre que la parathormone à action lente et prolongée, soit le seul facteur responsable de l'homéostasie calcique, ce qui serait susceptible de déterminer de larges fluctuations de ce paramètre (RASMUSSEN) (193).

Mais la constante calcique remarquablement fixe, aussi bien chez l'individu que chez l'animal, laissa suggérer l'existence d'un facteur hypocalcémiant à action rapide et, soupçonné d'origine parathyroïdienne.

Dès 1957, COPP & Coll. (73) fournirent les bases expérimentales permettant la découverte d'un tel facteur dénommé "calcitonine" en 1962 (47).

Cependant, il apparut très vite que cette hormone était sécrétée, chez les mammifères par des cellules thyroïdiennes (103) (69).

La découverte de la calcitonine devait donc modifier profondément nos conceptions de la régulation hormonale de la calcémie. Elle remettait également en question la physiologie même de la glande thyroïde présentant, dès lors, une dualité d'action en la présence de deux systèmes endocriniens apparemment indépendants et cependant fortement imbriqués : la calcitonine et les hormones thyroïdiennes iodées.

Si la physiologie de la calcitonine suggéra tout de suite un lien d'action avec la parathormone, le rôle indéniable des hormones thyroïdiennes iodées dans le métabolisme calcique permit d'émettre l'hypothèse d'un rapport entre les deux systèmes endocriniens de la thyroïde et plus précisément entre la calcitonine et la thyroxine.

Cette éventualité de rapport fut envisagée soit sous un aspect expérimental portant sur le paramètre "calcium", soit sous un aspect clinique. Ce dernier est toutefois limité de par la rareté des troubles patents du métabolisme calcique au cours d'affections thyroïdiennes. Cependant, des tests d'hyper et d'hypocalcémies provoquées (121) (123) ont permis de mettre en évidence des troubles latents masqués par les autres principes régulateurs.

D'autre part, la méthode des bilans au calcium 45, appliquée à l'enfant hypothyroïdien (124), semble suggérer que l'interdépendance "thyroxine-calcitonine" doit être élucidée au niveau du catabolisme osseux.

C'est dans cet esprit que nous avons abordé nos recherches dans le but d'apporter une contribution supplémentaire à l'étude des rapports d'action : "thyroxine-calcitonine" dans la régulation calcique chez le Rat.

Pour aborder ce problème, nous avons déterminé une hypothyroïdie, soit par thyroparathyroïdectomie, soit par carence en iode ou par action d'un anti-thyroïdien de synthèse.

L'influence de la thyroxine sur l'activité hypocalcémiante de la calcitonine sera mise en évidence par l'étude du métabolisme calcique au moyen de bilans calciques au ^{45}Ca, ainsi que par l'action de la calcitonine, administrée seule ou associée à la thyroxine.

L'étude des variations cytophysiologiques au niveau du site d'élaboration de ces hormones et l'éventuel lien entre l'état fonctionnel de ces cellules sécrétrices et leur action hormonale au niveau périphérique nous permettra d'élucider à quel niveau se situe cette interdépendance d'action : cellules sécrétrices ou organe cible ?

Enfin, "in vitro", l'influence de la thyroxine sur l'action inhibitrice de la calcitonine sur le catabolisme de l'os préalablement marqué au ^{45}Ca nous permettra de confirmer à quel niveau se situe le rapport d'action de ces deux hormones.

PREMIERE PARTIE

POSITION ACTUELLE DU PROBLEME

I - LA CALCITONINE

La découverte relativement récente d'une nouvelle hormone intervenant dans le métabolisme calcique devait modifier la théorie de la régulation de l'homéostasie.

Essayant de vérifier l'hypothèse de "Feed-back" émise par Mac LEAN et URIST (144), COPP & Coll., en 1957, (73) notèrent que la thyroparathyroïdectomie, chez le Chien, prédispose l'animal à une hypercalcémie dans certaines conditions strictement codifiées.

Ceci étant en désaccord avec les conceptions classiques, les auteurs ne publièrent pas leurs résultats (73).

En 1960, SANDERSON & Coll. (211) montrèrent que, chez l'animal témoin, la calcémie revient à sa valeur normale en moins de six heures, après qu'elle ait été augmentée par une perfusion de sels calciques, ou abaissée par une injection d'EDTA. Au contraire, chez le Chien thyroparathyroïdectomisé, l'équilibre calcique n'est obtenu qu'au bout de 24 heures.

L'absence de parathormone explique aisément le temps nécessaire au rétablissement de l'équilibre calcique chez le Chien opéré soumis à une injection d'EDTA. Par contre, le retour rapide au chiffre normal de la calcémie de l'animal témoin rendu hypercalcique ne peut être expliqué par un simple arrêt de la production de parathormone.

L'existence d'un autre mécanisme de régulation calcique semblait donc s'imposer.

En 1961-1962, COPP & Coll. (47) montrèrent que la perfusion par du sang hypercalcique de l'appareil thyroparathyroïdien du Chien détermine une hypocalcémie plus précoce et plus importante que celle obtenue chez le même animal par parathyroïdectomie totale.

Ainsi, était mis en évidence le phénomène fondamental montrant que la surcharge calcique n'avait pas pour seul effet de supprimer la production de parathormone comme on le pensait, mais de libérer, dans la circulation, une substance hypocalcémiante que COPP nomma "calcitonine" et à laquelle, compte tenu de ces arguments et de l'inefficacité de la perfusion calcique de la glande thyroïde, il assigna une origine parathyroïdienne.

En 1963, KUMAR & Coll (129) par la même technique de perfusion de l'appareil thyroparathyroïdien du Chien, confirmèrent l'existence de ce facteur hypocalcémiant, sans toutefois préciser son origine.

En effet, l'interdépendance de la thyroïde et des parathyroïdes de cet animal amenait un certain doute sur l'origine même de la substance hormonale.

La même année, HIRSCH & Coll. (103) (104) constatèrent qu'une parathyroïdectomie chirurgicale détermine, chez le Rat, une hypocalcémie moins prononcée que celle due à une parathyroïdectomie par cautérisation.

Ces résultats suggérant que, dans ce dernier cas, la lésion inévitable du tissu thyroïdien attenant pouvait libérer une substance hypocalcémiante, HIRSCH & Coll. (103) confirmèrent cette hypothèse en obte-

nant une hypocalcémie par cautérisation du seul tissu thyroïdien, et nommèrent ce facteur "thyrocalcitonine". Ces mêmes auteurs (104) montrèrent qu'un extrait acide de glande thyroïde avait un effet hypocalcémiant chez le Rat parathyroïdectomisé chirurgicalement.

Dès lors était soulevé le problème de savoir si calcitonine et thyrocalcitonine était une seule et même substance.

Dès 1964-1965, FOSTER & Coll (69) (70) montrèrent que contrairement aux résultats obtenus par COPP & Coll. (46) (47), la perfusion de la thyroïde d'un Chien parathyroïdectomisé semblait être en faveur de l'origine thyroïdienne du facteur hormonal.

Afin d'éliminer le critère de l'interdépendance du système thyro-parathyroïdien, les auteurs expérimentèrent par la suite chez la Chèvre dont les parathyroïdes externes sont totalement indépendantes de la thyroïde, les irrigations sanguines étant distinctes (71).

Ils montrèrent ainsi que la perfusion des glandes parathyroïdes par du sang riche en calcium n'induit aucune variation de la calcémie. Par contre, une hypocalcémie de l'ordre de 15 % est notée si la thyroïde est inclue dans la perfusion (71 .

FOSTER & Coll. (70) (71) vérifièrent l'exactitude de ces résultats en étudiant l'action d'extraits de glandes thyroïdes, obtenues par simple hydrolyse acide à chaud.

Ils montrèrent ainsi, que l'administration, par voie intraveineus de l'extrait autogène à des Chèvres ayant subi au préalable une hémithyroïdectomie, déterminait, dans les deux heures qui suivaient l'injection, une très nette hypocalcémie.

La même année, HIRSCH & Coll. (105), BAGHDIANTZ & Coll. (17) obtenaient des extraits partiellement purifiés du facteur hypocalcémiant à partir de la thyroïde du Porc, ce qui confirmait l'origine thyroïdienne de cette hormone.

Calcitonine et thyrocalcitonine paraissaient dès lors une seule et même substance, ce que FOSTER, MacINTYRE et PEARSE (69) confirmèrent par la suite histochimiquement au niveau tissulaire.

La discussion a rebondi tout récemment avec les travaux de COPP (49) (50) (51) (52), au sujet de l'origine ultimobranchiale de la calcitonine chez les oiseaux, les poissons et les reptiles. L'étude de l'embryogénèse des cellules C de la thyroïde des mammifères semble toutefois avoir apporté une solution au problème.

A) - LIEU D'ELABORATION DE LA CALCITONINE. LES CELLULES C.

La mise en évidence de la calcitonine mit fin à la controverse née au sujet des cellules parenchymateuses thyroïdiennes décrites pour la première fois en 1877 par BABER (15). L'existence d'un second type de cellules en position parafolliculaire était reconnue mais les connaissances acquises de la physiologie de la glande ne concernaient que les vésicules.

A la suite des observations de FOSTER & Coll. (69), des travaux tant histologiques qu'histochimiques et d'ultrastructure permirent d'établir le rôle sécrétoire de ces cellules. Il est toutefois nécessaire de

rappeler brièvement l'historique de ces éléments cellulaires ayant donné lieu à diverses interprétations.

Mentionnées pour la première fois par BABER en 1877-1882 (15), ces cellules furent décrites en 1894 par HÜRTHLE sous le nom de "protoplasmareichezellen".

En 1914, BENSLEY (25) indiqua l'existence chez l'Opossum, de nombreuses cellules ovoïdes renfermant un produit de sécrétion non défini. En 1922, BIEDL (33) considéra ces structures comme immatures, l'abondance chez le jeune étant un signe d'hyperactivité fonctionnelle.

Après les travaux de TAKAGI (230) et de SEECOF (219) mettant en évidence, chez le Chien et chez l'Homme, des éléments interfolliculaires riches en mitochondries, WILSON (251) et LUDWIG en 1927 (138) affirmèrent qu'il s'agissait de coupes tangentielles de follicules.

D'ailleurs, selon WEGELIN (246) il était impossible d'en établir la nature embryonnaire tandis qu'en 1932, MARINE (146) les considérait comme capables de se développer et de se différencier sous l'action d'un stimulus supplémentaire au niveau thyroïdien.

Le travail le plus important de cette époque revient toutefois à NONIDEZ qui leur donna précisément le nom de cellules parafolliculaires.

Par imprégnation argentique (technique de CAJAL) cet auteur montra en 1931-1932 (170) (171) (172) l'existence de nombreuses granulations cytoplasmiques, émettant l'hypothèse d'un phénomène de sécrétion endocrine.

De nombreuses études histologiques furent ensuite réalisées amenant d'ailleurs certaines controverses sur la localisation même de ces cellules. [YOUNG et LEBLOND (1963) (225)].

En 1964, FOSTER & Coll. (71) montrèrent qu'après perfusion de l'appareil thyroparathyroïdien par du sang hypercalcique, il n'y avait aucune modification au niveau des cellules parathyroïdiennes. Par contre, les cellules parafolliculaires, riches en mitochondries de la thyroïde présentent une très nette diminution en α-glycérophosphate déshydrogénase, une augmentation en phosphatase acide et une certaine stabilité de la NADH-diaphorase, indices d'activité sécrétoire.

Le terme de "cellules C" fut introduit, en 1966, par PEARSE (177) qui émit l'hypothèse de la sécrétion de la calcitonine à leur niveau. Ce terme n'est cependant pas restrictif à la glande thyroïde, mais peut s'appliquer également à un système endocrinien pouvant être localisé dans d'autres glandes ou être diffus.

1) - Aspect histologique

Le pourcentage des cellules C par rapport aux cellules folliculaires est de 1 % chez le Rat. [YOUNG & Coll.(1967 - 1968) (256) (257)].

Elles s'en distinguent toutefois par des affinités tinctoriales différentes. Les colorations mettant en jeu des métaux lourds permettent leur identification par la mise en évidence d'une granulation cytoplasmique

NONIDEZ 1932 (171), SAITO-SHIBATA 1957 (210), SANDRITTER-KLEI 1934 (212), SUGIYAMA 1954 (226) (227), TASHIRO 1964 (233).

Enfin, leurs propriétés cytoplasmiques étant maintenant bien établies, il est également possible de les identifier par les méthodes générales de coloration des cellules endocrines. Leur distribution et leur forme varient suivant les espèces. Elles sont toutefois plus volumineuses que les cellules de l'épithélium folliculaire et il en est de même pour les noyaux.

Il faut cependant préciser que les cellules C ne sont pas toujours en position parafolliculaire. Cette détermination impropre vient de leur identification première avec les cellules claires situées au niveau des cordons de Wölfer. Cependant, de récentes études histologiques et ultrastructurales ont permis de les situer, chez certaines espèces animales, en position épifolliculaire. Il est même possible, notamment chez les rongeurs, d'en localiser parmi les cellules épithéliales. YOUNG et LEBLOND (255).

L'ultrastructure, actuellement bien connue : MATSUZAWA & Coll. (150) (151), LUCIANO & Coll. (137), WISSIG (252), YOSHIMURA & Coll. (254), YOUNG & Coll. (255) chez le Rat ; EKHOLM (62) chez la Chauve-souris ; AZZALI (1) chez le Hamster ; PEARSE (181), TASHIRO (232) (233) chez le Chien ; YOUNG (257) chez le Porc ; AOI (5) chez les primates (30) (125), a permis d'établir les modifications cytophysiologiques en rapport avec la calcémie.

L'observation des granulations cytoplasmiques chez les hibernants [AZZALI (14), PEARSE & Coll. (133), NUNEZ & Coll. (173), WELS & Coll. (248)], et chez les animaux dont la glande thyroïde est perfusée pa du sang plus ou moins riche en calcium [YOUNG & Coll. (255), MATSUZAWA & Coll. (151)], montre que la moindre hausse de la calcémie entraîne la diminution du nombre des granulations au niveau des cellules C, ce qui confirme leur activité sécrétoire.

Des modifications numéraires des cellules C peuvent toutefois avoir lieu. Nous y reviendrons au cours de la partie expérimentale de ce travail.

2) - Embryologie des cellules C.

Nous rappellerons brièvement les principaux travaux réalisés sur l'embryogénèse de ces cellules. Leur intérêt est de mettre en évidence l'apparition précoce de cette fonction hormonale, son indépendance par rapport à l'autre système endocrinien de la glande thyroïde, et d'apporter une réponse à la controverse soulevée par COPP & Coll. (49) au sujet de l'origine de la calcitonine.

La lignée d'origine des cellules dites parafolliculaires fut longtemps discutée. Pour les uns, il s'agissait de cellules folliculaires ayant subi des transformations [NONIDEZ (170), EHRENBRAND (63), PONSE et ALTSCHULLER (185), ALTMANN (4)]. Pour les autres, c'était des éléments non thyroïdiens ayant migré, et, vraisemblablement d'origine thymique. [SUNDLER. PLASMANN (229)]. Quelques années plus tard,

SANDRITTER & Coll. (212) réfutaient cette conception.

Cependant, depuis plusieurs années, d'autres chercheurs émettaient l'hypothèse d'une origine ultimobranchiale. GODWIN (87) VAN DYKE (244), DUMONT (60), KROON (127), SATO & Coll. (214), MOSELEY & Coll. (164).

Dès 1964, TASHIRO & Coll. (233) établirent la similitude de structure et d'ultrastructure des cellules du kyste intrathyroïdien d'origine ultimobranchiale, et des cellules parafolliculaires.

L'année suivante, ISHIKAWA & Coll. (109) montrèrent l'identité d'ultrastructure des corps ultimobranchiaux et de la thyroïde primordium dès les 14ème et 15ème jours de gestation chez la Ratte.

En 1967, CARVALHEIRA et PEARSE (40) confirmèrent ces résultats en utilisant la propriété qu'ont les cellules C de fixer un précurseur d'amine soit le DL-5-hydroxytryptophane et de le transformer en l'amine correspondante : la 5-hydroxytryptamine. Celle-ci est alors mise en évidence par une réaction fluorescente (méthode de FALCK (66)).

Les auteurs purent ainsi suivre, dès le 12ème jour de gestation chez la Ratte, le cheminement des cellules C, des corps ultimobranchiaux vers la thyroïde.

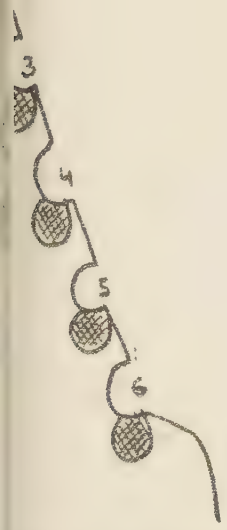
Ceci fut confirmé, chez le fœtus humain, par SUGIYAMA, KITOH et YOKOTA en 1969 (228). Il est désormais bien établi que les

Embryologie de la Thyroide

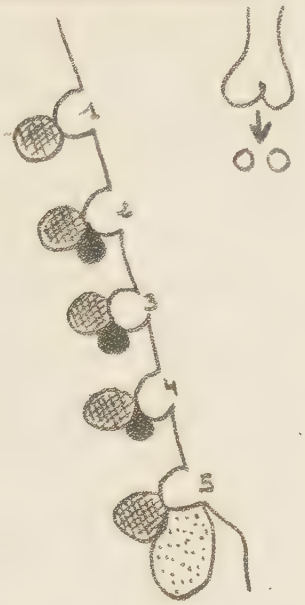
ET DES

C. Ultimo-branchiaux

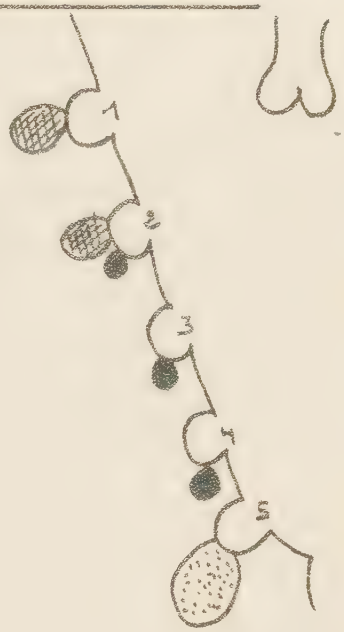
ns ganoides



Batraciens Urodeles



Batraciens Anoures

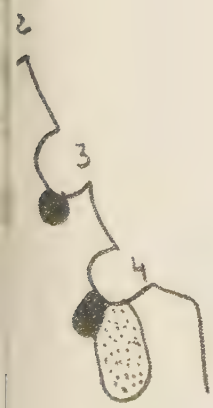


Ebauches thymiques.

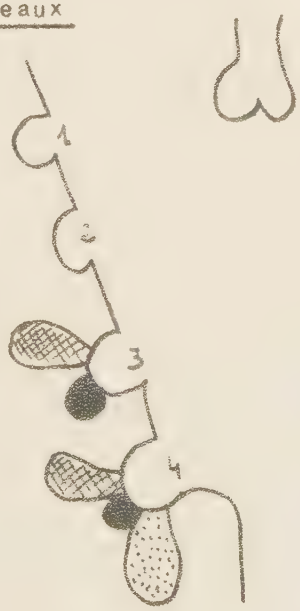
" parathyr.

Corps ultimo-branchiaux

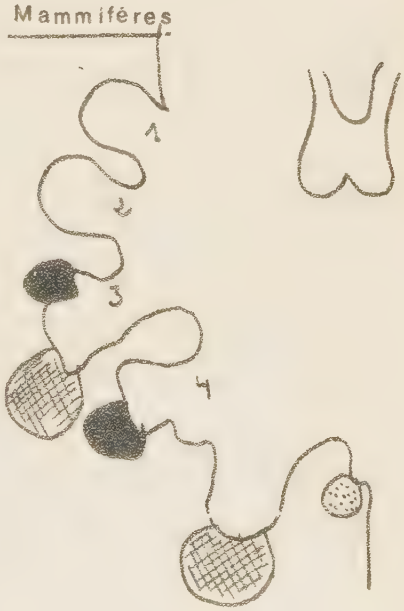
les



Oiseaux



Mammifères



E. GUEYNOT

Schéma n° 1

cellules C se développent dans les ébauches des corps ultimobranchiaux qui chez les mammifères, fusionnent avec l'appareil thyroparathyroïdien d'où l'explication de la divergence de localisation de ces cellules dans les différentes classes de vertébrés.

Le schéma n° 1 illustre la différenciation de l'appareil thyroparathyroïdien et celle des corps ultimobranchiaux dans les différents groupes de vertébrés.

3) - Cytochimie des cellules C.

Les cellules C sont associées aux cellules de la série APUD, soit : "Amine and Precursor Uptake and Decarboxylation", PEARSE (179) (180) (181) (182). Elles ont en commun des propriétés liées à la production et au stockage d'une protéine précurseur d'hormone de faible poids moléculaire soit :

a) - un taux élevé en α-glycérophosphate déshydrogénase dont la signification fonctionnelle n'est pas déterminée de façon précise.

b) - une quantité importante de cholinestérase, d'estérase non spécifique ou des deux. WELSH & Coll. (249) (250), PEARSE (179), MATSUZAWA (150).

Diverses hypothèses sont émises sur la signification fonctionnelle de ces composants. WELSH et PEARSE (249) :

- jouer un rôle dans le catabolisme des composés de faible poids moléculaire, en réponse à une stimulation (cf : acétylcholine et cellules nerveuses).

- intervenir dans la destruction d'un catabolite normal mais toxique pour la cellule.

- être associé à la synthèse de composants cellulaires riches en phospholipides.

- être directement liés au processus de sécrétion cellulaire.

c) - présence d'une amine fluorescente. PEARSE (182), HARGIS & Coll. (98), MALMQUIST & Coll. (145).

d) - présence présumée d'une décarboxylase d'acides aminés. Ceci n'est toutefois pas encore mise en évidence de façon positive. HARANSON et OWMAN (97).

Les cellules C constituent donc, au sein de la glande thyroïde, un système endocrinien bien distinct tant du point de vue histologique que des caractères cytochimiques et embryologiques.

B) - EXTRACTION, PURIFICATION, ISOLEMENT, SEQUENCE et SYNTHESE de la CALCITONINE.

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour l'extraction de la calcitonine à partir de la glande thyroïde ou des corps ultimobranchiaux.

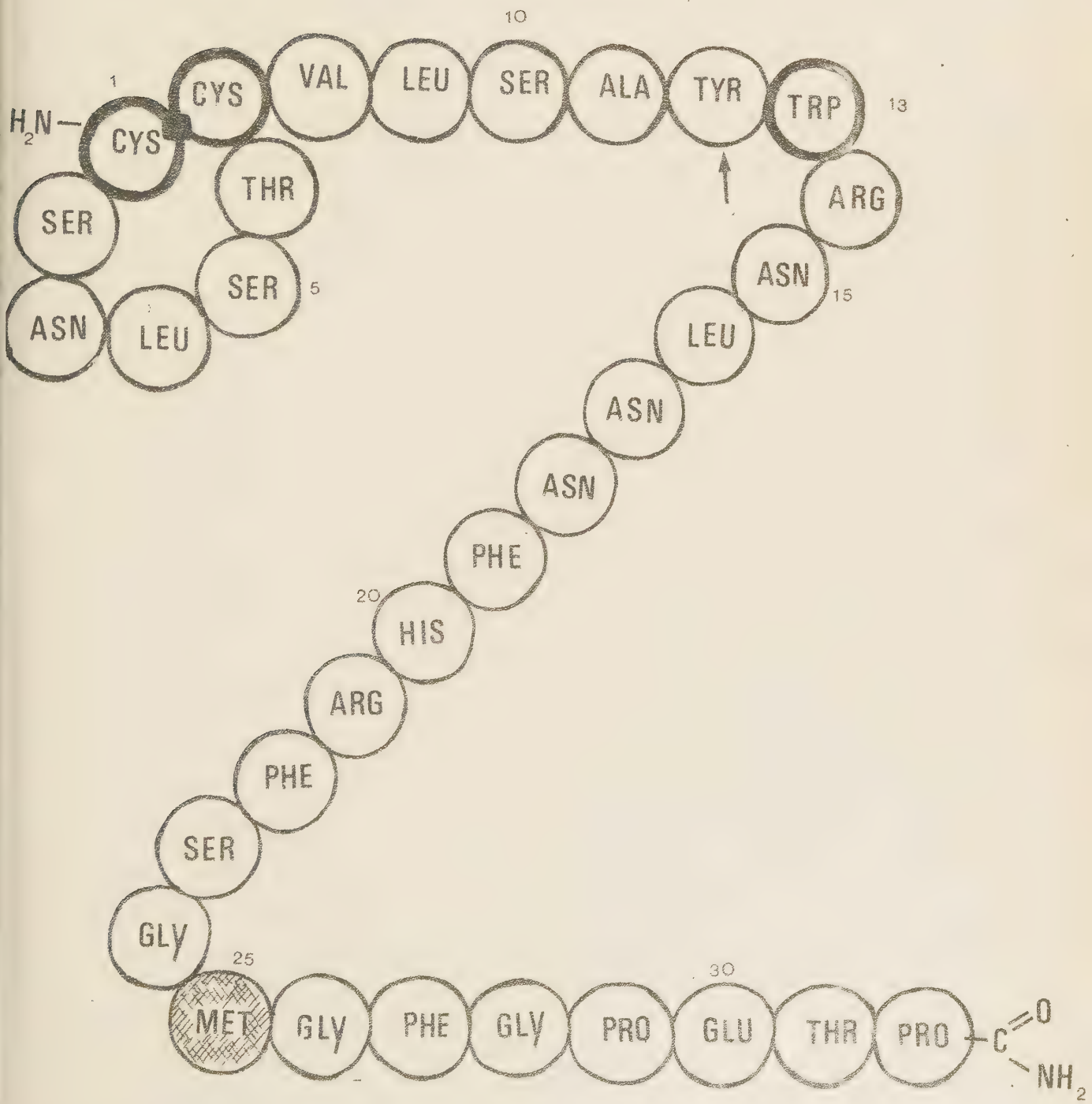
Les premiers extraits ont été obtenus à partir de la glande thyroïde traitée par l'acide chlorhydrique soit à froid, soit à chaud. [HIRSCH & Coll. (104), BAGHDIANTZ & Coll. (17)].

Cependant, certains auteurs ont préféré une extraction aux solvants organiques (mélange butanol-acide acétique-eau). [NEHER & Coll. (165), GUDMUNDSSON & Coll. (91) (92), TENENHOUSE & Coll. (238), HAWKER & Coll. (99)].

Représentation schematique de la structure sequentielle

de la

Calcitonine porcine - POTTS et coll. 1968



sidus importants pour l'activité biologique 1.13

non essentiel 25

Schéma n° 2

La purification de cette hormone a posé de nombreux problèmes. Cependant, récemment, plusieurs groupes de chercheurs ont pu l'isoler à l'état pur [PUTTER & Coll. (189), GUDMUNDSSON & Coll. (92), POTTS & Coll. (186), KAHNT & Coll. (117) (118), FRANZ & Coll. (74), BELL & Coll. (23)] .

Sa séquence et son poids moléculaire exacts ont été déterminés [NEHER & Coll. (166) (167), POTTS & Coll. (187), BELL & Coll. (23)].

De l'ensemble de ces travaux, il ressort que cette hormone est constituée de 32 acides aminés possédant un poids moléculaire de 3 600 (cf. schéma n° 2).

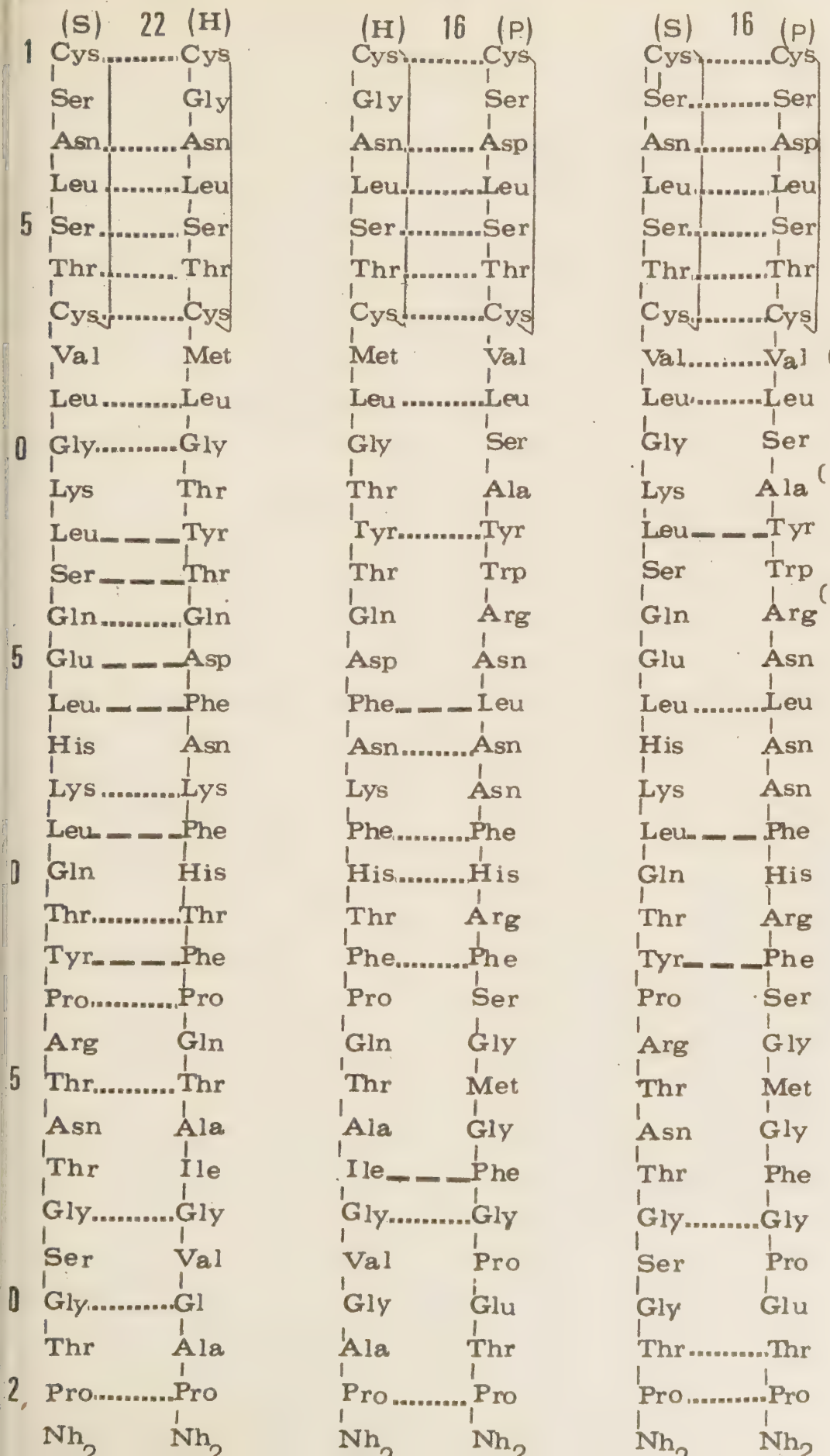
Dans la formule séquentielle de calcitonine provenant d'espèces animales diverses et étudiées jusqu'à présent, on trouve toujours 32 résidus d'acides aminés, un pont disulfure en position 1-7, suivi d'une chaîne de 23 acides aminés se terminant toujours par la prolinamide.

Cependant la calcitonine bovine diffère de celle du Porc par trois résidus d'acides aminés [BREWER & Coll. (32)], alors que celle de l'Homme (monomère M) en diffère par 18 résidus d'acides aminés.

Le résidu glycine se trouve toujours en position 28. Comparant la calcitonine humaine à celle du Saumon, on remarque que 16 acides aminés sur 32 sont localisés dans la même position. Dans les 6 autres positions correspondantes, nous trouvons des acides aminés possédant des propriétés similaires : ainsi la thréonine se trouve à la place de la sérine, la leucine à celle de la phénylalanine, l'acide aspartique à celle de l'acide glutamique. Ainsi la relation entre ces deux calcitonines peut s'exprimer par le rapport 22/32 soit 69 % (cf. schéma n° 3) [GUTTMANN & Coll. (94) (95)].

Comparaison de la structure primaire de calcitonines. GUTTMAN et Coll.

	16	14	13
ntiques :			
mblables:	6	2	3



(S) _ Saumon.

(H) _ Homme.

(P) _ Porc.

schéma n°3

Par contre, la comparaison de la calcitonine porcine et humaine montre une identité entre 14 acides aminés et une similarité entre 2 seulement. Le degré de relation structurale est donc de 16/32 ou 50 %. [GUTTMANN & Coll. (95)] (cf. schéma n° 3).

Enfin, il a été montré par COOP & Coll. (52) ainsi que par GUTTMANN & Coll. (95) que l'activité de la calcitonine du Saumon était supérieure à celle du Porc.

Il faut cependant noter que si l'on apporte une modification dans les résidus de cystine, tryptophane ou tyrosine, la molécule de calcitonine de Porc perd presque totalement son activité biologique, sans toutefois perdre son activité immunologique. [BREWER & Coll. (32)].

Le résidu méthionine peut être par contre modifié sans aucune perte d'activité biologique ou immunologique [POTTS & Coll. (188), BREWER & Coll. (32)].

Ces résultats montrent que certaines modifications peuvent être apportées dans la molécule de calcitonine entraînant une perte de l'activité biologique tout en n'altérant pas l'activité immunologique.

Selon SIEBER & Coll. (220), la possibilité de modifier les résidus de certains acides aminés de la molécule de calcitonine sans toutefois entraîner une perte d'activité, ne change en rien le fait que la présence de 32 acides aminés semble être nécessaire à une activité biologique totale.

Les peptides préparés par ces auteurs et ne possédant qu'une séquence partielle de la calcitonine ne peuvent avoir une action hypocalcémiante aussi importante que la molécule hormonale dans son intégrité

La synthèse de la calcitonine porcine et humaine (monomère M) ainsi que celle du Saumon a été réalisée tout récemment. [RITTEL & Coll (201), GUTTMANN & Coll. (95), GREVEN et TAX (90)].

Il semble qu'à l'heure actuelle, la voie soit ouverte pour l'usage thérapeutique de cette hormone.

C) - QUELQUES PROPRIETES PHYSIQUES ET CHIMIQUES de la CALCITONINE .

BAGHDIANTZ, FOSTER, MacINTYRE & Coll. (17), ont montré en 1964, que l'extrait partiellement purifié de calcitonine était relativement stable à l'ébullition.

De plus, l'incubation de cet extrait en présence de trypsine ou de pepsine à pH 3 et 7 conduit à son inactivité totale en 6 heures. Par contre, cet extrait conserve son activité même après deux semaines s'il est maintenu à 4° et à un pH inférieur à 4,6. Au delà d'un pH de 7,2, il y a perte d'activité.

En 1965, TASHJIAN et MUNSON (235) ont observé que l'action hypocalcémiante de la calcitonine disparait rapidement lors de son incubation avec du sérum normal. Ces auteurs trouvent que le sérum renferme une substance inactivante qui peut être isolée par précipitation au moyen de sulfate d'ammonium saturé à 50 %. [TASHJIAN et VOELKELL (236)]

L'inactivité due à certains enzymes a été étudiée par TASHJIAN et WARNOCK (237) : ainsi l'hydrolyse au moyen de la trypsine, de la pepsine, de la chymotrypsine conduit rapidement à une disparition totale

de l'activité.

Par contre, aucune modification n'a lieu lors d'un traitement à la carboxypeptidase, à la leucine-aminopeptidase, à la neuraminidase. Ces auteurs montrent également une disparition de l'activité hypocalcémiante de cette hormone lors de son traitement par l'eau oxygénée à pH 8.

ALDRED et SCHLUETER (2) ont également noté une disparition complète de l'activité hypocalcémiante de la calcitonine après incubation de cette dernière à 37° pendant 4 heures dans un tampon tris 0,1 M à pH 7,5

Par contre, l'hormone mise à incuber dans du sérum physiologique à pH 3,2 conserve ses propriétés biologiques. Selon ces auteurs, les préparations moins actives donc moins purifiées semblent être plus stables que l'hormone pure et celle-ci apparait plus labile à pH neutre.

L'addition de sérum de Rat ou de Chien préalablement chauffé ou non à 60° pendant 20 minutes et à une concentration de 0,1 à 1 % détermine une perte d'activité moins importante de la calcitonine incubée à un pH supérieur à 5.

Ces auteurs ont essayé plusieurs agents de stabilisation : l'albumine porcine, l'ovoalbumine, qui semblent être aussi efficaces que le sérum. A l'heure actuelle, on emploie la sérum-albumine bovine pour stabiliser la calcitonine.

D) - MODE et SITE d'ACTION de la CALCITONINE

L'étude comparée de l'action de la calcitonine et de la parathormone montra immédiatement que si cette dernière agissait au niveau de trois organes cibles : l'intestin, l'os et le rein, le point d'impact de la

calcitonine était essentiellement l'os avec toutefois une certaine action au niveau rénal.

1) - Action rénale.

Cette action fut et demeure controversée.

Après les travaux de HIRSH & Coll. (105) montrant l'action hypocalcémiante de la calcitonine chez un animal néphréctomisé, ceux réalisés par MILHAUD & Coll. (160) au moyen de ^{45}Ca ne permettaient plus d'exclure une action aussi minime soit-elle de la calcitonine sur le rein.

Ces auteurs démontrèrent qu'il faut, pour que l'action directe de la calcitonine sur le rein se manifeste, injecter une dose d'hormone nettement supérieure à celle nécessaire pour voir apparaître l'effet hypocalcémiant. ROBINSON & Coll. (205) (206) confirmèrent ces résultats de même que RUSSEL & Coll. (209) en 1968 chez le Rat, le Chien et le Porc.

Selon ZIEGLER et PFIEFFER (258) l'effet phosphaturique de la calcitonine est certain mais son action est plus faible que celle de la parathormone.

D'autre part, l'effet de la calcitonine exogène est minime et non significative.

Selon certains auteurs, notamment MILHAUD, MOUKHTAR (156) (157) (158), RASMUSSEN & Coll. (194), l'administration simultanée de calcitonine et de parathormone produit le même effet que l'administratio

de chacune de ces deux hormones.

Cependant, les expériences de ZIEGLER & Coll. (258) ainsi que celles d'autres auteurs ne confirment pas cette observation. Pour ces auteurs, l'administration simultanée de ces deux hormones diminue l'effet phosphaturique dû à la parathormone seule.

Enfin, CLARK & Coll. (44) (43) effectuant des études de clearance chez le Chien, ont montré récemment que la calcitonine était sans effet direct sur l'excrétion du calcium, du phosphore, du magnésium et du sodium. PAK & Coll. (174) confirment ce résultat en ce qui concerne le phosphore.

Très récemment, BORLE (28) (29) effectuant des cultures de cellules rénales de Singe, a effectué un bilan du calcium rénal en mesurant l'entrée de l'électrolyte dans le rein, sa concentration cellulaire et son excrétion. Il note que la calcitonine en augmente la concentration cellulaire mais en diminue la sortie.

Il ressort de ces travaux que l'action directe de la calcitonine sur le rein n'est pas nette chez l'animal. Les résultats obtenus varient suivant les espèces étudiées et laissent suggérer une action sur le phosphore plus que sur le calcium.

Il en est différemment chez l'Homme chez lequel ARDAILLOU & Coll. (6) (7) (8) ont montré que la calcitonine augmentait :

- la phosphaturie aussi bien chez l'Homme normal que chez l'hypo

et l'hyperparathyroïdien ce qui exclut toute intervention parathyroïdienne.

- la calciurie,
- la natrurie,
- la chlorurie, la clearance de la créatinine étant inchangée.

Ceci a été confirmé par WASE & Coll. (245) et plus récemment, en 1969, par celles de CLARK & Coll. (43), BARTIER & Coll. (18) et DAMBACHER & Coll. (54).

En conclusion, la calcitonine semble avoir, chez l'Homme une action rénale globale plutôt qu'une action spécifique sur le calcium et le phosphore.

La discordance des effets notés chez l'Homme et chez d'autres espèces serait due, d'après FOSTER (73) à une différence de Turn-over. Celui-ci étant très faible chez l'Homme, l'action hypocalcémiante de la calcitonine apparait plusieurs heures après son injection. Cet effet se manifeste par contre chez le Chien dans les minutes qui suivent l'injection si bien que l'effet rénal éventuel de l'hormone est masqué par la baisse immédiate de la quantité de calcium filtré.

2) - Action au niveau osseux.

Dès 1965, MILHAUD & Coll. (155), expérimentant sur le Rat préalablement marqué au calcium 45, ont les premiers, mis en évidence l'action inhibitrice de la calcitonine sur le catabolisme osseux :

- en interprétant l'effet de cette hormone sur les variations de la radioactivité spécifique de calcium sanguin.
- en mesurant les paramètres du métabolisme calcique du Rat

maintenu en hypocalcémie par des injections répétées de calcitonine.

- en étudiant ce que devenaient les différents paramètres du métabolisme calcique au cours de surcharges calciques (161).

La même année, FRIEDMAN & Coll. (76) confirmèrent les conceptions de MILHAUD en étudiant "in vitro" l'action de la calcitonine sur l'os. Ils montrèrent histologiquement que la calcitonine diminuait la prolifération des ostéoclastes et des fibroblastes ainsi que la résorption de la matrice, phénomènes stimulés par la parathormone.

Cette inhibition de la résorption osseuse fut ensuite étudiée quantitativement en évaluant l'ordre de réponse de la calcitonine en pourcentage d'inhibition de la libération de calcium 45, par l'os marqué, dans le milieu expérimental par rapport au milieu témoin. [FRIEDMAN & Coll. (76)].

De l'ensemble des travaux effectués "in vitro", il ressort que l'action inhibitrice de la calcitonine est :

- indépendante de la parathormone en l'absence de laquelle elle peut se manifester, et, dont de fortes doses n'augmentent pas l'effet d'une dose submaximale de calcitonine, [FRIEDMAN & Coll. (77) (78)].

- proportionnelle à la quantité d'hormone introduite dans le milieu [ALIAPOULIOS & Coll. (1), GAILLARD & Coll. (81) (82) (83), NISBET & Coll. (168), RAISZ & Coll. (190) (191) (192)] . Ce rapport est sensiblement le même que celui établi pour la parathormone FRIEDMAN & Coll. (77) .

- plus rapide que l'action de la parathormone qui détermine un effet immédiat mais de faible amplitude et dont le maximum de réponse

est lent, exigeant une certaine adaptation des cellules osseuses au mécanisme de résorption.

La calcitonine, par contre, induit une action immédiate et rapide. [FRIEDMAN & Coll. (78), REYNOLDS & Coll. (197) (198)].

Ainsi, était établie l'action de la calcitonine au niveau de l'os. Ceci fut ensuite confirmé, en 1966-1967, par MacINTYRE & Coll. (141) (142), et PARSON & Coll. (175), qui, perfusant le tibia de Chat avec de la calcitonine montrèrent la rétention du calcium au niveau de l'os perfusé

La même année, FOSTER & Coll. (72) apportèrent des preuves tant radiographiques qu'histologiques de l'inhibition du catabolisme osseux par la calcitonine. Ils notèrent qu'après 28 jours d'injections de cette hormone chez le Rat, la densité osseuse était accrue au niveau des vertèbres caudales et que la trabéculation augmentait près des plateaux épiphysaires.

Etant donné les rapports étroits unissant la partie minérale de l'os à sa trame organique, les recherches s'orientèrent vers l'action de la calcitonine au niveau même de la matrice osseuse.

En 1966, MARTIN & Coll. (147) montrèrent qu'une perfusion de calcitonine, chez le Rat, s'accompagne d'une diminution de l'excrétion d'hydroxyproline urinaire ce qui traduit l'inhibition du catabolisme osseux

La même année, JOHNSTON & Coll. (115) notèrent une diminution de la fixation de proline radioactive par des calvariens de Rat soumis à l'action de la calcitonine pendant seulement trois heures.

En 1968, DOTY & Coll. (58) étudièrent la phosphatase acide et l'adénosine-triphosphate dans les cellules osseuses, se basant sur les travaux de VAES qui, en 1965 (243), montra que la résorption osseuse s'accompagnait d'une libération accrue de phosphatase acide.

Ces auteurs notèrent qu'après un traitement à la calcitonine, il apparait une hypocalcémie suivie d'une baisse significative de la phosphatase acide au niveau métaphysaire du fémur et une diminution de la minéralisation.

La même année, KLEIN & Coll. (119) (120) envisagèrent le problème en se plaçant dans des conditions physiologiques déterminant une altération du taux d'hydroxyproline : lavage péritonéal, parathyroïdectomie, néphrectomie, régime carencé en calcium. La calcitonine détermine une baisse du taux d'hydroxyproline dans chacun des cas, et l'amplitude des phénomènes fait conclure à ces auteurs que la calcitonine induit une inhibition de toutes les phases de la résorption osseuse.

En 1969, BAYLINK & Coll. (19), étudiant l'action de la calcitonine au niveau de la diaphyse du Rat thyroparathyroïdectomisé, notent également une diminution significative de la résorption osseuse même en l'absence d'hormone parathyroïdienne endogène.

Les phénomènes observés au niveau de la matrice peuvent résulter, d'après BAYLINK & Coll. (19) soit de l'effet direct de la calcitonine sur le processus même de synthèse de la matrice, soit d'un effet secondaire de l'action de cette hormone, c'est-à-dire de l'hypocalcémie.

Ces résultats sont toutefois en contradiction avec ceux de VASE & Coll. (245) qui, en 1966, ont montré histologiquement que la calcitonine

augmentait le volume de l'os cortical.

Le problème d'une éventuelle action de ce facteur hormonal sur l'ostéogénèse a été soulevé par plusieurs auteurs.

Pour MATRAJT (149), la calcitonine induit soit une inhibition de la minéralisation du tissu ostéoïde, soit un accroissement de l'ostéogénèse. Certains critères renforcent cette dernière conception, notamment l'augmentation des ostéoblastes actifs.

De même KUMAR & Coll. (131) notent une diminution de la croissance osseuse chez des rats présentant une carence en calcitonine (thyroïdectomie suivie d'une greffe des parathyroïdes et d'injections de thyroxine). Les auteurs concluent également que la calcitonine semble favoriser l'ostéogénèse.

Récemment, DELLING & Coll. (56) (57), étudiant l'influence de la calcitonine sur la guérison des fractures et la formation d'os ectopique dans le rein provoquée par la ligature unilatérale de l'artère rénale, montrèrent que la calcitonine augmente la formation de l'os nouveau.

"In vitro", GAILLARD & Coll. (81) (82) (83), HEERSCHE (101) confirment une action possible sur l'ostéogénèse, soit histologiquement, soit biochimiquement par incorporation de proline tritiée dans le milieu de culture.

Enfin, ROBERTSON, en 1969, (203) (204) met en évidence l'ac-

tion de la calcitonine sur la mobilisation du calcium, en réalisant une ablation des corps ultimobranchiaux chez la Grenouille.

Cet auteur constate :

- une hypercalcémie associée à une hypercalciurie précoce suivie d'hypocalcémie.

- un retard dans l'ossification enchondrale, lors de la guérison des fractures.

- une diminution des réserves de calcium contenues dans les "limes sacks" paravertébraux et une déminéralisation du squelette.

D'après ROBERTSON (203), la calcitonine d'origine ultimobranchiale semble donc inhiber la mobilisation du calcium ce qui retentit sur la regénération osseuse.

En conclusion, il ressort de l'ensemble de ces travaux que l'action physiologique de la calcitonine se situe essentiellement au niveau osseux. Cette hormone semble pouvoir agir sur l'accroissement de l'os, mais son action principale n'en est pas moins l'inhibition du catabolisme osseux.

Le rein ne constitue qu'un site secondaire, la néphrectomie n'altérant pas l'action de cette hormone.

Le mécanisme d'action hormonale au niveau tissulaire n'est toutefois pas connu et fait l'objet de diverses hypothèses.

3) - Mode d'action au niveau tissulaire.

La calcitonine ne semble pas s'opposer directement à la parathormone en inhibant sa sécrétion, ou en empêchant son action au niveau cellulaire. [ALIAPOULIOS & Coll. (1), GUDMUNDSSON & Coll. (9), SCHACHTER & Coll. (216), TASHJIAN & Coll. (234)].

Il est possible, selon GAILLARD & Coll. (82), MATRAJT & Coll. (148) que l'hormone puisse agir "in vivo" aussi bien qu"in vitro" sur le nombre des ostéoblastes et des ostéoclastes, en augmentant les premiers, en diminuant les autres. Ces modifications ne se produisent probablement pas immédiatement, et, comme l'action hypocalcémiante de la calcitonine est rapide, d'autres facteurs doivent certainement intervenir.

Récemment, NISBET et NORDIN (168) ont observé que le taux d'acide citrique diminuait "in vitro" par l'addition de calcitonine au milieu de culture. Cette diminution est encore plus importante lorsqu'il y a une stimulation préalable par la parathormone.

Il est donc possible que, par ce type d'action, la calcitonine puisse régler le pH au niveau cellulaire : toute augmentation de l'acidité pouvant produire une solubilité accrue de la partie minérale de l'os, et, au contraire, une diminution de l'acidité pouvant déterminer une diminution de la résorption osseuse.

D'ailleurs, il a été montré que la parathormone agit également sur le taux de l'acide citrique en l'augmentant.

Quelques hypothèses et suggestions intéressantes ont été proposées, récemment par certains auteurs :

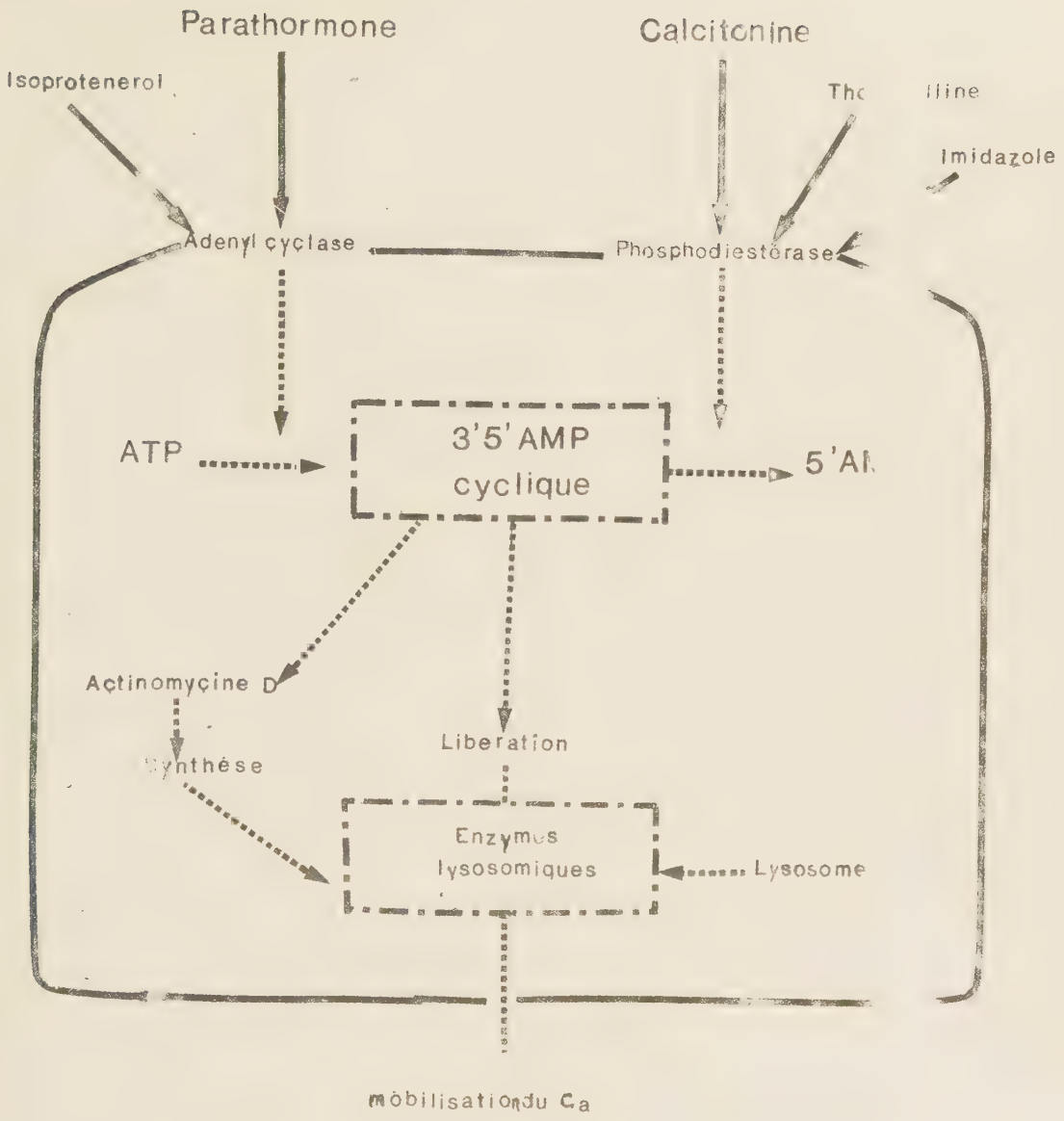
- CHASE & Coll. (41) (42) suggèrent, que l'hormone parathyroïdienne agit sur les cellules osseuses et rénales en stimulant l'adénylcyclase qui augmenterait la production de l'AMP cyclique. Cette stimulation est spécifique et ne peut pas être reproduite par d'autres hormones. D'autre part, la parathormone ne produit pas cet effet sur d'autres tissus.

- WELLS et LLOYD (247) suggèrent de leur côté que la calcitonine stimule la phosphodiestérase, provoquant ainsi une destruction rapide de l'AMP cyclique et diminuant ainsi l'action de la parathormone (schéma n° 4).

- MacINTYRE (143) propose, par contre, un autre mécanisme. Selon cet auteur, l'hormone parathyroïdienne stimule la résorption osseuse d'une manière inconnue, mais comprenant dans son mécanisme l'AMP cyclique comme second messager.

Agissant sur un site récepteur différent, au niveau de la membrane de la cellule osseuse, la calcitonine agirait sur la pompe de calcium, qui, elle, soutirerait le calcium de la cellule (schéma n° 5).

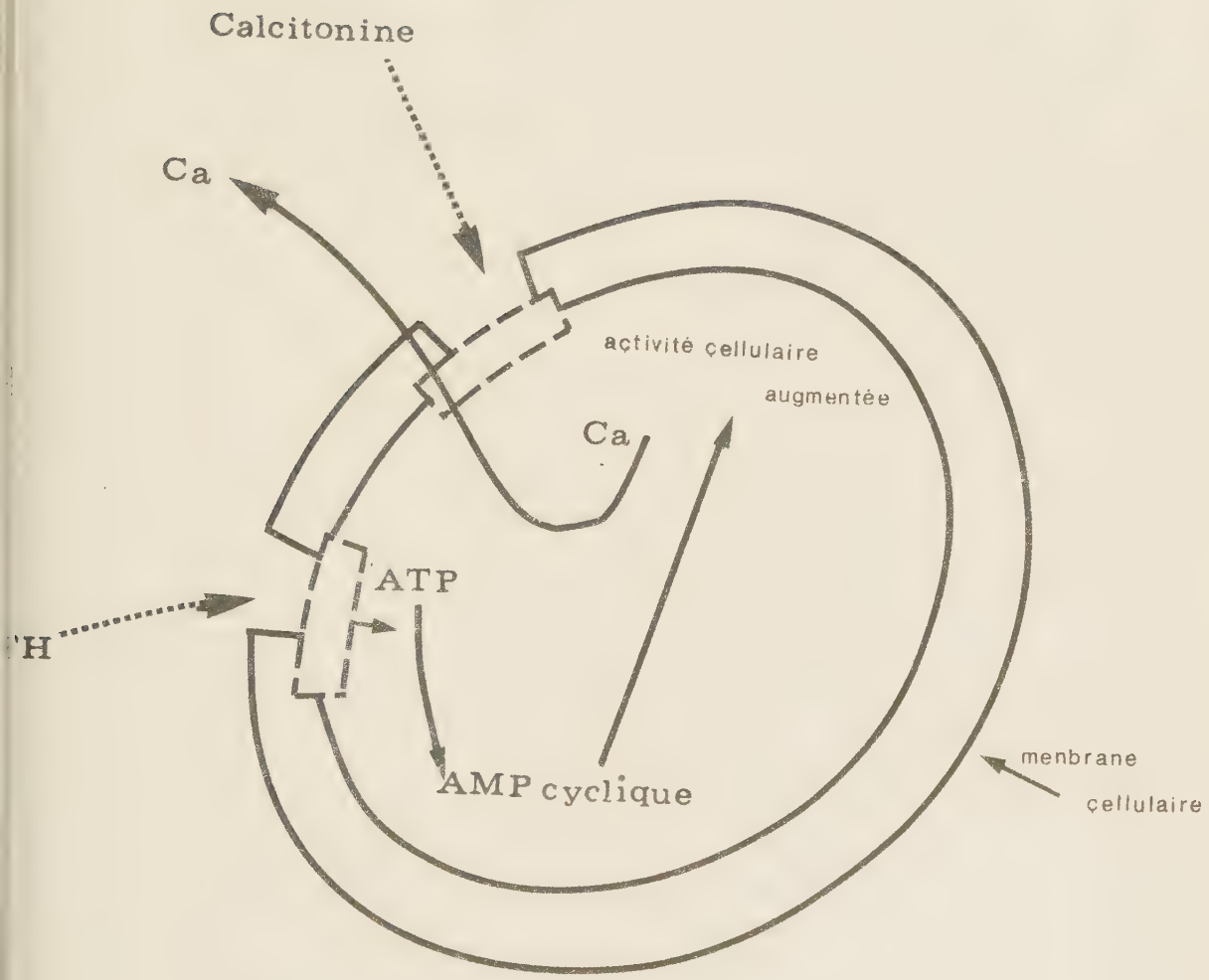
Cette théorie sous-entend que les variations du taux de calcium intracellulaire ainsi produites inhibent l'activité des ostéoclastes ou des ostéocytes ostéolytiques, empêchant de cette façon l'activité de l'hormone parathyroïdienne.



Mécanisme hypothétique de l'action de la Calci ine et de la Parathormone sur l'os.

d'aprés WELLS et LLOYD (1969).

schéma n° 4



écanisme hypothétique de l'action de la Calcitonine et
la Parathormone au niveau de la cellule osseuse.
aprés MacINTYRE (1969).

schéma n•5

- TENENHOUSE et RASMUSSEN (239), De LUCA & Coll. (136) ont aussi émis des hypothèses de ce genre. MacINTYRE pense que ce mode de transport du calcium à travers la membrane cellulaire peut intervenir sur d'autres cellules que l'os (143).

II - LA THYROXINE

Bien que durant de longues années, le rôle de la thyroïde dans le métabolisme calcique ait été considéré comme secondaire, il était toutefois établi que les hormones thyroïdiennes iodées, notamment la thyroxine, agissait sur les éliminations calciques.

Dès 1940-1942, BAUMONT & Coll. (20), ROBERTSON & Coll. (202) - LOGAN & Coll. (134) montrèrent que cette hormone augmentait la calciurie dans d'importantes proportions.

De même, au cours de l'hyperthyroïdie chez l'Homme, on note une excrétion accrue de calcium urinaire.

Enfin, l'administration d'extrait thyroïdien à un sujet normal détermine chez ce dernier, une augmentation des excrétions de calcium urinaire et fécal sans qu'il y ait hypercalcémie. KRANE (126).

En 1956, KRANE & Coll. (126) expliquèrent cette hypercalciurie comme étant une conséquence de l'action profonde de la thyroxine sur l'os, mécanisme mis en évidence par de nombreuses études expérimentales.

1) - ACTION de la THYROXINE au NIVEAU OSSEUX.

Cette hormone influence, en effet, la croissance et la maturation du squelette.

Elle accélère la fermeture des cartilages de conjugaison chez

la Souris. [SILBERBERG & Coll. (221)].

De même, la thyroparathyroïdectomie retarde le développement du squelette, chez le Rat, [RAY & Coll. (195) (196)], et diminue la taille des chondrocytes. [BECK & Coll. (21) (22)].

Chez le même animal, l'administration de thyroxine rétablit une image histologique normale de l'os, [BECK & Coll. (21), RAY & Coll. (195)] et, stimule la prolifération et l'élargissement du cartilage de conjugaison [BECK & Coll. (21)].

En 1954, CRANE & Coll. (53) notent une diminution de l'anabolisme osseux chez le Singe radiothyroïdectomisé. Enfin, SOBEL & Coll. (224) observent que l'administration de 25μg de thyroxine au Cobaye normal ne modifie pas la croissance de l'os : elle diminue sa teneur en substance minérale et arrête l'augmentation du poids de l'animal.

Cette action ostéolytique fut confirmée, en 1964, par AUBERT & Coll. (11) qui montrèrent que son intensité est du même ordre que celle de la parathormone, et, par ALONSO & Coll. (3) qui, en 1966, concluèrent que la thyroxine augmente la taille des compartiments calciques ainsi que les échanges auxquels ils sont soumis.

"In vitro", FELL et MELLAMBY (67) ont montré que l'addition de thyroxine au milieu de culture stimule la maturation de cartilage d'os embryonnaire de Poulet, retarde la croissance et provoque la dégénérescence des cellules osseuses. Les phénomènes sont quantitativement identiques à un certain nombre de ceux produits par l'action de l'extrait parathyroïdien [GAILLARD (80)].

En 1962, LENGEMANN (133) refait la même étude, mais en ajoutant également au milieu de culture du calcium 45. Il note que la thyroxine retarde la croissance de l'os, et, diminue son pouvoir de fixation de la radioactivité.

2) - ACTION de la THYROXINE au NIVEAU RENAL.

Chez l'Homme, l'hyperthyroïdie s'accompagne d'hypercalciurie [AUB & Coll. (10), ROBERTSON & Coll. (202), KRANE & Coll. (126)] .

Un traitement au moyen de thyroïde desséchée augmente la calciurie de malades atteints de myxœdème [ROBERTSON (202), KRANE & Coll. (126)].

Chez les malades myxœdémateux, on constate l'existence d'une hypocalciurie [AUB & Coll. (10), ROBERTSON & Coll. (202), KRANE & Coll. (126)].

Chez l'animal, ROBERTSON & Coll. (202) constatent que l'administration de thyroxine a dose élevée de 200 μg par jour entraîne une hypercalciurie.

En 1961, MATHIEU & Coll. (148) observent le même phénomène chez le Rat radiothyroïdectomisé. Ce résultat qui est apparemment en contradiction avec le précédent peut s'expliquer par la conservation de l'activité parathyroïdienne après radiothyroïdectomie.

Aucune action directe n'est actuellement établie. Récemment, GABBIANI & Coll. (79) ont montré que la thyroxine s'opposait à la calcification du tissu rénal du Rat soumis à des injections répétées de parathormone.

D'après les auteurs, ce serait un phénomène dû à l'action de la thyroxine sur le Turn-over.

3) - ACTION de la THYROXINE au NIVEAU INTESTINAL.

Cette action a été très peu étudiée chez l'animal.

En 1961, MATHIEU & Coll. (148) ont étudié, chez le Rat, le gain net en calcium au niveau du tube digestif, en utilisant l'oxyde de Titane, substance non absorbée. Ils notent un gain plus élevé chez le Rat éthyroïdé que chez le Rat normal. Cependant, la technique ne permettait pas de mesurer l'absorption du calcium.

En 1964, PAYNE et CHAMINGS (176) montrèrent, chez la Chèvre, que l'absorption du calcium n'était pas affectée par la thyroïdectomie, ni par une thérapeutique de remplacement à la thyroxine.

Cependant, en 1967, NOBLE et MATTY (169) ont montré que la thyroxine réduisait à la fois le transit actif et passif du calcium à travers la paroi intestinale; ceci fut confirmé par AUBERT & Coll. (11), FRIEDLAND & Coll. (75).

En conclusion, de ce rappel des propriétés biologiques des hormones sécrétées par le double système endocrinien de la glande thyroïde il ressort que :

- la thyroxine et la calcitonine ont des modes d'action différents

mais des points d'impact identiques notamment l'os au niveau duquel l'une favorise l'ostéolyse, l'autre l'inhibe.

- le niveau de catabolisme osseux est un critère très important conditionnant l'action même de la calcitonine.

III - OBJET ET PLAN DE RECHERCHE

Le rôle indéniable des hormones thyroïdiennes iodées dans le métabolisme calcique permit d'émettre l'hypothèse d'une éventualité de rapport d'action entre la calcitonine et la thyroxine.

Ce problème fut envisagé par différents auteurs, soit sous un aspect expérimental portant sur le paramètre "calcium", soit sous un aspect clinique. De l'ensemble des travaux publiés, il est possible de dégager les conclusions suivantes :

- les maladies thyroïdiennes s'accompagnent très rarement, chez l'adulte de troubles évidents du métabolisme calcique s'extériorisant en clinique de façon patente sous la forme d'hypercalcémie, d'hypocalcémi d'ostéoses décalcifiantes.

- les hyperthyroïdies avec hypercalcémie sont très rares et doivent toujours conduire à la recherche d'un adénome parathyroïdien associé. [ENGFELDT & Coll. (64), JACKSON & Coll. (110), BREUER & Coll. (31)].

- les hypercalcémies sans hyperparathyroïdie sont également rares. [EPSTEIN & Coll. (65), DAVID & Coll. (55)].

- les hypothyroïdies avec hypercalcémie sont exceptionnelles chez l'adulte. Certains cas sont observés chez l'enfant. [LOWE & Coll. (135)] .

Cette rareté des troubles patents du métabolisme calcique dans les affections thyroïdiennes, en dépit de l'action très précise de la thyroxine et de la calcitonine sur la résorption osseuse, tient probablement à l'effet équilibrant des autres principes régulateurs de l'homéostasie calcique.

Cependant, l'exploration dynamique de l'équilibre calcio-régulateur par des tests d'hypo et d'hypercalcémies provoquées met en évidence des troubles latents. [KLOTZ & Coll. (121) (122) (123)].

Enfin, JOB & Coll. (114), appliquant la méthode des bilans au calcium 45 dans le cas de l'hypothyroïdie chez l'enfant, ont montré que le bilan était positif par suite de l'effondrement de l'ostéolyse et de l'abaissement de l'ostéogénèse.

L'explication de l'interdépendance "thyroxine-calcitonine" semble donc devoir être élucidée au niveau même du catabolisme osseux.

C'est dans cet esprit que nous avons mené nos recherches dans le but d'apporter une contribution supplémentaire à l'étude, chez le Rat, des rapports d'action de la thyroxine et de la calcitonine dans la régulation du métabolisme calcique.

Nous avons fondé notre étude sur un syndrome expérimental d'hypothyroïdie, soit par thyroparathyroïdectomie, soit par carence en iode ou par action d'un anti-thyroïdien de synthèse.

Dans une première partie, nous avons confirmé l'origine thyroïdienne de la calcitonine au moment même, où en 1965 existait la controverse au sujet de l'origine parathyroïdienne ou thyroïdienne de cette hormone, certains auteurs suggérant même l'existence de deux facteurs, l'un thyroïdien, l'autre parathyroïdien.

Nous avons également mis en évidence l'indépendance de la calcitonine par rapport au contrôle exercé par l'hypophyse sur la thyroïde

Dans une deuxième partie, nous avons étudié au moyen de bilan calciques au ^{45}Ca, le métabolisme calcique chez le Rat hypothyroïdien, mettant ainsi en évidence l'importance de la thyroxine dans ce métabolisr

La comparaison de l'intensité de l'hypocalcémie induite par la calcitonine exogène et la valeur V_{o-} du catabolisme osseux donnée par le bilan calcique, nous a permis de mettre en évidence l'influence de la thyroxine sur l'activité hypocalcémiante de la calcitonine.

Dans une troisième partie, nous avons essayé d'élucider à quel niveau "thyroïdien ou osseux", s'exerçait cette influence, ceci en étudiant les variations cytophysiologiques au niveau du site d'élaboration de ces hormones, essayant de faire le lien entre l'état fonctionnel de ces cellule et l'action hormonale périphérique.

Enfin, dans une quatrième partie, nous avons essayé de confirmer, "in vitro", l'influence au niveau osseux, de la thyroxine sur l'activité hypocalcémiante de la calcitonine.

DEUXIEME PARTIE

MATERIEL et METHODES

I) - LES ANIMAUX d'EXPERIMENTATION

L'ensemble de nos travaux a porté sur environ 500 rats albinos de souche Wistar pesant en moyenne 100 grammes en début d'expérimentation.

Chaque étude expérimentale a été réalisée sur des lots homogènes de 8 à 10 rats mâles.

Tous les animaux étaient soumis aux mêmes conditions de vie et au même régime alimentaire standard, à l'exception des rats chez lesquels nous avons induit une carence en iode ou une carence en iode et en calcium.

Les régimes utilisés étaient alors :

- pour la carence en iode : le régime de type Remington, modifié par SIMON, dont la composition est la suivante :

farine de maïs	88.600
farine de gluten	2.200
levure de bière	0.230
lait en poudre	4.300
CO_3Ca (chimiquement pur)	3.500
ClNa (chimiquement pur)	1.170
TOTAL	100.000 grammes.

La teneur en iode de ce régime est inférieur à 5 μg pour 100 grammes d'aliments.

- pour la carence en iode et en calcium : le régime dont la composition est formée de :

maïs 950
levure 20
sel 10
vitamines A, D, E, B_{12} sur glucose 10
Q.S. glucose ..... 1.000 gr.

d'où une concentration en calcium de 2 000 mgr/kg.

Ces deux régimes nous ont été fournis par U.A.R. (Usine d'Alimentation Rationnelle de Villemoisson-sur-Orge).

Enfin, dans les deux cas, les animaux buvaient de l'eau perfutée SAGEI.

En ce qui concerne le traitement au propylthiouracile, nous n'avons pas utilisé la méthode qui consiste à ajouter le PTU à l'eau de boisson. Afin de s'assurer de la quantité quotidienne de PTU ingérée par chaque animal, nous leur avons administré par voie intramusculaire. (2, 5 mgr par 100 gr. de poids).

Pour les études "in vitro", nous avons travaillé sur des fœtus de rats de même portée, la reproduction étant réalisée au laboratoire entre des rats de même souche.

II) - TECHNIQUES OPERATOIRES.

Toutes les opérations ont été effectuées sous anesthésie induite par injection intrapéritonéale d'Avertine en solution aqueuse au 1/40. L'anesthésie est profonde et ne semble pas entraîner de troubles chez les animaux.

1) - HYPOPHYSECTOMIE

L'hypophysectomie a été réalisée suivant la technique classique mise au point par SMITH en 1927.

L'opération se fait par voie para-trachéale. L'incision cutanée s'étend de l'articulation sterno-claviculaire à la symphyse mentonnière. Les glandes salivaires sont clivées sur la ligne médiane et réclinées sur les faces latérales du cou.

L'incision médiane des muscles antérieurs du cou découvre la trachée et la région thyroïdienne.

En réclinant le pédicule thyroïdien en direction de la symphyse mentonnière, et la trachée vers la gauche, on atteint la base du crâne au niveau des muscles de la loge cervicale postérieure. Ces muscles sont désinserrés et la trépanation est effectuée sur la ligne médiane de la suture occipito-sphénoïdale.

Après incision de la dure-mère qui doit être intacte au terme de la trépanation, l'ablation de la glande pituitaire est effectuée par aspiration à l'aide d'une pipette.

L'orifice de trépanation est ensuite obturé de façon partielle au moyen d'un fragment de gélatine imprégnée d'antibiotiques, et l'incision refermée en deux plans.

Les rats ainsi hypophysectomisés ont été maintenus à une température moyenne de 26° et soumis à un éclairement artificiel de 12 heures. Dans ces conditions expérimentales, il semble que les variations cycliques qui concernent, chez la femelle, l'activité ovarienne et qui se répercutent par l'intermédiaire de l'hypophyse sur tous les éléments du système endocrinien, soient éliminées. [SAWYER et EVERETT (215). BENOIT (24)] .

2) - THYROPARATHYROIDECTOMIE.

La thyroparathyroïdectomie peut être pratiquée soit par électrocautérisation, soit par exérèse chirurgicale. Nous avons choisi cette dernière technique.

Les premiers temps de l'opération sont ceux de l'hypophysectomie. La région thyroïdienne étant découverte, l'isthme de la thyroïde est sectionné, et thyroïde et parathyroïdes sont alors enlevées, tout en évitant de sectionner le nerf récurrent.

L'incision verticale est ensuite refermée en deux plans.

III) - LES BILANS CALCIQUES

Le bilan est défini comme étant la différence entre la quantité de calcium ingéré et celle de calcium excrété dans l'urine et les selles par unité de temps.

Si la méthode des bilans mesure le gain net de l'organisme, elle ne renseigne pas sur l'intensité avec laquelle fonctionnent les processus d'anabolisme et de catabolisme osseux.

Ainsi, un bilan positif peut être dû à :

- une augmentation de l'anabolisme osseux, le catabolisme étant normal ou moins augmenté.
- une diminution de l'anabolisme accompagné d'une diminution importante du catabolisme.

De plus, la méthode des bilans ne peut distinguer le calcium fécal endogène de l'exogène, et ne permet pas de mesurer l'absorption au cours de la digestion.

L'utilisation simultanée du calcium radioactif et de la méthode des bilans permet de lever ces incertitudes et de mesurer ainsi les principaux paramètres du métabolisme calcique. Cette méthode a été mise au point par AUBERT et MILHAUD (11).

TEST au CALCIUM 45

Nous avons utilisé le schéma du métabolisme calcique établi, en 1960, par MILHAUD & Coll. (153) chez le Rat. (schéma n° 6).

Modèle utilisé

Il s'agit d'un modèle à deux compartiments en équilibre, représentant le fond commun calcique soit :

- un compartiment P rapidement échangeable contenant le calcium sérique, le calcium des liquides extracellulaires, celui des tissus mous.

- un compartiment E correspondant au calcium plus lentement échangeable, et représenté par le calcium osseux utilisé pour la recristallisation.

Ces deux compartiments sont soumis à un phénomène d'échanges irréversibles ou non.

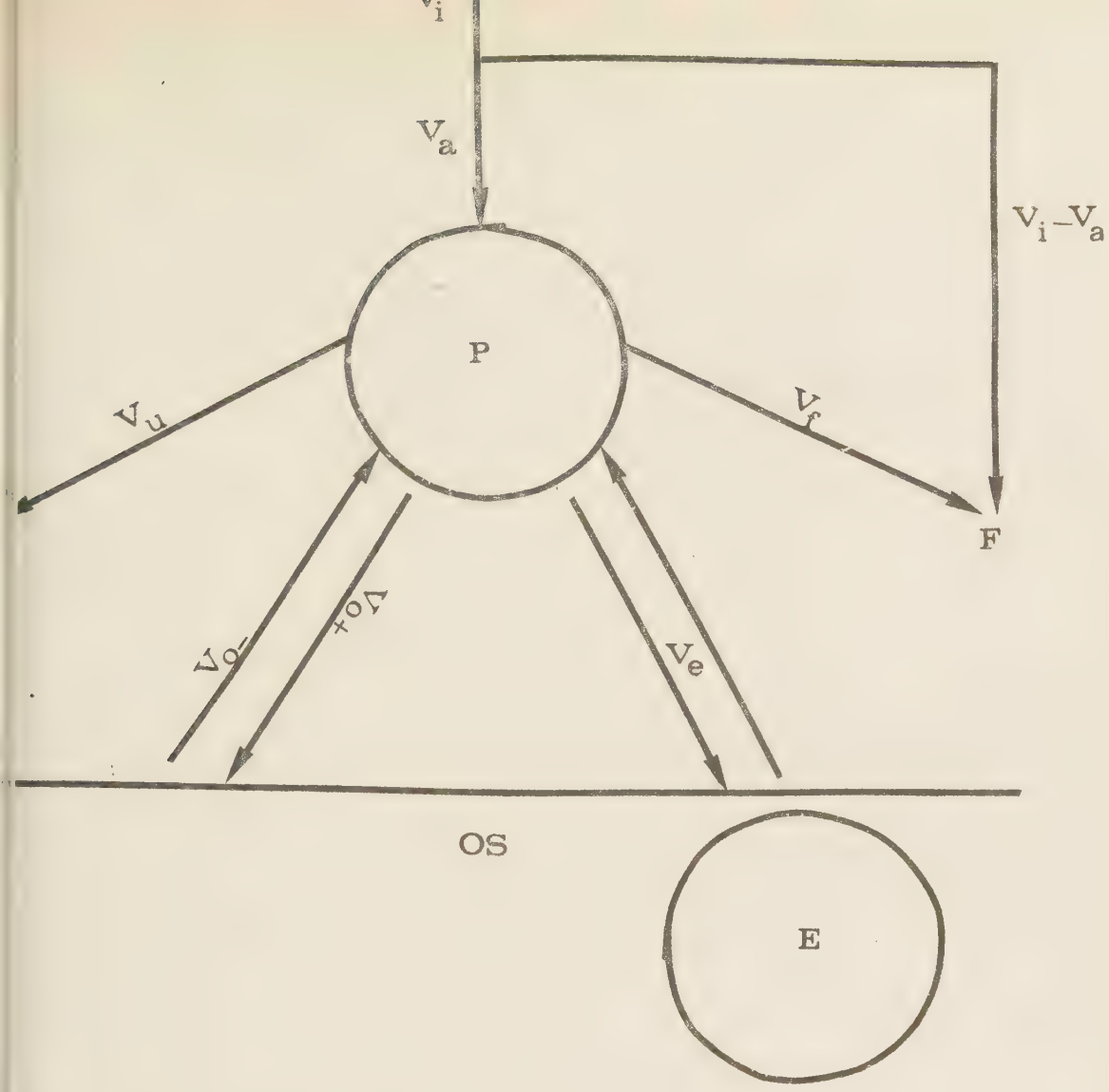
Le calcium sort du compartiment P de façon irréversible :

dans l'urine à la vitesse V_u

dans les selles à la vitesse V_f

dans l'os à la vitesse V_{o+} (anabolisme osseux).

soit : $V_T = V_u + V_f + V_{o+}$ la vitesse totale de sortie.



- quantité de calcium ingéré ($mg_{/j}$).
- quantité de calcium absorbé ($mg_{/j}$).
- quantité de calcium excrété par le rein ($mg_{/j}$).
- quantité de calcium excrété par l'intestin ($mg_{/j}$).
- calcium total des selles ($mg_{/j}$).
- quantité de calcium détaché de l'os ($mg_{/j}$).
- quantité de calcium fixé sur l'os ou détaché de l'os par échange lent ($mg_{/j}$).
- compartiment rapidement échangeable du fonds commun calcique.
- compartiment lentement échangeable du fonds commun calcique.

HEMA du METABOLISME du CALCIUM chez le RAT

schéma n° 6

Le calcium qui entre dans le compartiment P est :

le calcium absorbé au niveau intestinal V_a
le calcium résorbé de l'os V_{o-} (catabolisme osseux)
et le calcium lentement échangeable à la vitesse V_e. (cf. schéma n° 6).

Principe de la méthode.

Deux groupes de données expérimentales permettent de déterminer à l'aide d'une analyse mathématique les principaux paramètres du métabolisme calcique.

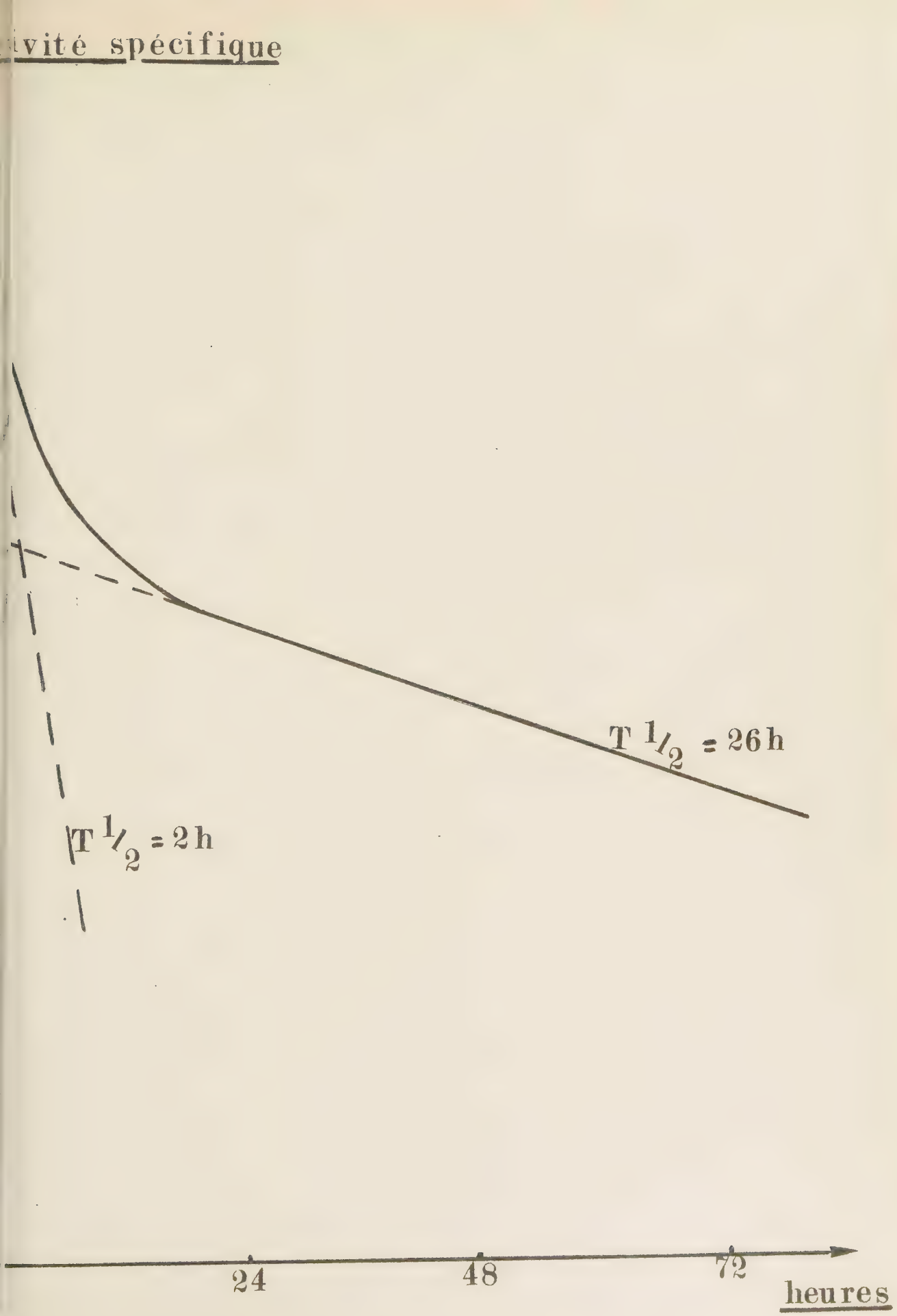
1°) - la courbe de décroissance de la radioactivité spécifique du calcium sérique R_s après injection d'une dose traçeuse de calcium 45 soit R_i.

2°) - l'analyse chimique :
- du calcium ingéré V_i
- du calcium fécal F
- et de la calcémie.

La décroissance de la radioactivité spécifique du calcium sériqu R_s entre 0 et 72 heures, est représentée dans un système semi-logarithmique par la courbe rapportée sur la fig. n° 7.

Elle peut être exprimée par une somme de deux exponentielles. (En effet, si tout le calcium de l'organisme était réparti dans un seul compartiment ouvert, cette décroissance de radioactivité serait exponentielle, se traduisant par une droite en coordonnées semi-logarithmiques).

ivité spécifique



L'équation de la courbe obtenue est donc de la forme :

$$R_s = Ae^{-at} + Be^{-bt}$$

où, A, B (ordonnées à l'origine) et a, b, (pentes des courbes) sont des nombres positifs.

Si R_i est la radioactivité totale injectée au temps t = 0, R_s et R_{s1} les radioactivités spécifiques des compartiments P et E au temps t, les variations de ces radioactivités spécifiques en fonction du temps peuvent s'exprimer ainsi :

$$\frac{dR_s}{dt} = -R_s\left(\frac{V_e}{P} + \frac{V_t}{P}\right) + R_{s1}\frac{V_e}{P}$$

$$\frac{dR_{s1}}{dt} = -R_{s1}\left(\frac{V_e}{E}\right) + R_s\left(\frac{V_e}{E}\right)$$

La résolution de ce système donne donc les expressions suivantes

$$\frac{V_e}{P} = \frac{(a-b)^2\ AB}{(aB + bA)(A + B)} \qquad (1)$$

$$\frac{V_T}{P} = \frac{ab\ (A + B)}{aB + bA} \qquad (2)$$

$$\frac{V_c}{E} = \frac{aB + bA}{A + B} \qquad (3)$$

Calcul de P

L'équation de décroissance de la radioactivité spécifique du calcium sérique donne au temps t = 0 une valeur R_{so}. L'homogénéisation étant très rapide, on peut admettre qu'il n'y a pratiquement pas de perte de radioactivité et P est donc égal à :

$$P = \frac{R_i \text{ (en } \mu Ci)}{R_{so} \text{ (en } \mu Ci/mg)}$$

Les équations (1), (2), (3), permettent alors de calculer V_T, V_e, E.

Calcul de V_u

MILHAUD & Coll. (153) ont montré, en 1960, que l'on pouvait supposer que la radioactivité spécifique de l'urine était analogue à celle du sérum. Il est donc inutile de doser le calcium urinaire.

L'évaluation de la radioactivité totale R_u de l'urine entre 0 et 72 heures permet de déterminer V_u ; on a donc :

$$R_u = \sum 72 \cdot V_u \cdot R_s$$

d'où :

$$R_u = V_u \int_0^{72} R_s$$

$$V_u = \frac{R_u}{\int_0^{72} R_s}$$

Calcul de V_f

Le calcium fécal est la somme du calcium alimentaire non résorbé et du calcium excrété par l'intestin.

La radioactivité spécifique du calcium excrété par l'intestin à un moment donné est également supposée être la même que celle du calcium sanguin ou urinaire à cet instant.

On peut donc déterminer la quantité totale de calcium excrété par l'intestin en un temps donné en divisant la radioactivité totale des selles par la radioactivité spécifique moyenne du calcium urinaire ou sérique correspondant au même laps de temps.

$$V_f = \frac{R_f}{\int_0^{72} R_s}$$

Calcul de V_{o+}

Sachant que $V_T = V_{o+} + V_u + V_f$ et connaissant V_t, V_u, V_f, la valeur de V_{o+} est déterminée par différence.

Mesure de V_i

Elle est donnée par la quantité de calcium ingérée par jour.

Mesure de F

C'est la quantité de calcium fécal total par jour.

Mesure de V_a

Elle est évaluée à partir de $F = V_i - V_a + V_f$; connaissant F, V_i, V_f, on en déduit V_a.

Mesure de V_{o-}

Le bilan osseux $\Delta = V_i - (F + V_u)$, est aussi égal à $V_{o+} - V_{o-}$; connaissant Δ et V_{o+}, on en déduit V_{o-}.

Protocole expérimental.

1) - Au temps t = 0, on injecte 40 μCi de calcium 45, de haute activité spécifique, dans la veine caudale des animaux placés alors séparément dans les cages à métabolisme.

Aux temps t = 2^h, 4^h, 6^h, 24^h, 48^h, 0,05 ml de sang sont prélevés à chaque animal par ponction intracardiaque.

Au temps t = 72^h, on prélève 5 ml de sang par voie intra-aortique, et sous anesthésie légère à l'éther.

L'animal est alors sacrifié.

Les urines sont recueillies sur papier filtre entre 0 et 72 heures, de même que les selles.

Pendant la durée de l'expérience, les animaux boivent de l'eau distillée à leur gré. La nourriture est pesée au début et à la fin de l'expérience, ce qui permet, connaissant la teneur de l'alimentation en calcium, d'évaluer la quantité de calcium ingérée pendant l'expérience.

2) - En un second temps, sont effectuées les mesures de la radioactivité sérique, urinaire et fécale ainsi que les différents dosages chimiques permettant d'effectuer l'analyse mathématique pré-citée.

Après centrifugation, chaque échantillon de sérum d'un volume de 0, 02 ml et correspondant aux différentes prises intracardiaques, est évaporé sur une capsule d'aluminium, puis compté devant la fenêtre d'un compteur proportionnel "Nuclear-Chicago" pour rayonnement β.

La calcémie de chaque animal étant déterminée sur le dernier prélèvement de sang de 5 ml, il est alors possible de tracer la courbe de décroissance de la radioactivité spécifique.

D'autre part, les selles recueillies sont minéralisées au four à moufle à 600° pendant 8 heures. Les cendres sont extraites à chaud par de l'acide chlorhydrique au 1/2, et le volume est complété à 100 ml.

Après neutralisation, 1 ml de cette solution est précipité par une solution d'oxalate d'ammonium. Le précipité d'oxalate de calcium ainsi formé est recueilli sur un filtre Millipore, dont la radioactivité est comptée, donnant la valeur de R_f.

Le même processus est appliqué aux papiers-filtre sur lesquels sont recueillies les urines.

Le calcium 47 des fœces est dosé par complexométrie à l'EDTA en présence de calcéine et à partir de la solution précédente diluée au 1/50.

En ce qui concerne ce travail, l'étude mathématique a été réalisée au moyen du "Time-Sharing"* de notre laboratoire.

---

* Utilisation d'un ordinateur central en simultanéité par la méthode du partage des temps (Time-Sharing).

IV) - ESSAIS BIOLOGIQUES

L'ensemble des expérimentations a été réalisé en utilisant de la calcitonine d'origine porcine provenant des laboratoires "Armour - Kankakee - Illinois", et dont l'activité est de 88 unités MRC par milli gramme.

Il nous semble tout d'abord utile de définir les unités de calcitonine employées jusqu'à nos jours et notamment l'unité MRC.

Les premières unités employées ont été celles de HIRSCH & Coll. (104), ainsi que celle d'HAMMERSMITH | BAGHDIANTZ & Coll. (17)

L'unité de HIRSCH étant la quantité de calcitonine qui, injectée chez le Rat mâle de 150 à 180 gr, détermine au bout d'une heure une baisse de la calcémie d'environ 10 mg par litre.

L'unité HAMMERSMITH représentant la quantité d'extrait qui, injectée dans la veine caudale d'un Rat de 150 gr, maintenu à jeun pendant une nuit, détermine au bout de 60 minutes, une baisse de la calcémie de 1 mg par litre.

L'année suivante, ce dernier groupe de chercheurs | KUMAR & Coll. (130) | définit une autre unité dénommée unité MRC (Medical Research Council).

Cette dernière unité est environ 1.000 fois plus grande que l'unité d'HAMMERSMITH et 100 fois plus grande que celle d'HIRSCH : une

injection intraveineuse de 10 mU MRC déterminant chez un Rat de 150 gr une baisse du calcium plasmatique d'environ 10 %, 50 minutes après l'injection.

Des préparations étalon de calcitonine sont actuellement fournies sur demande par "The Medical Research Council, Department of Biological Standards, MILL HILL".

Deux étalons sont jusqu'à présent accessibles : l'étalon A et l'étalon B, tous les deux d'origine porcine.

L'action de la calcitonine étant de déterminer une rétention du calcium au niveau de l'os, ceci par l'inhibition du catabolisme osseux, il s'ensuit que la valeur préexistante de ce dernier est un critère de première importance.

Ce critère est lui-même fonction de différents facteurs tels que l'âge, le régime alimentaire, le taux préexistant des autres hormones comme la parathormone, la thyroxine.

Par différentes études faites au sujet de l'essai biologique de la calcitonine, il ressort un certain nombre de critères auxquels nous devons satisfaire.

1 - L'effet est nettement supérieur par voie intraveineuse que par voie sous-cutanée [KUMAR & Coll. (130)] .

2 - La calcitonine est une hormone à action rapide dont le maximum d'effet a lieu entre les 30 et 60 minutes qui suivent une simple injection intraveineuse [KUMAR & Coll. (130)] .

3 - L'essai est plus sensible et plus précis chez le jeune animal, l'intensité et la durée de la réponse étant réduite chez l'animal agé, par suite du niveau de son catabolisme osseux [HIRSCH (104), COPP & Coll. (48), PHILLIPO & Coll. (184), CARE & Coll. (35)] .

4 - Le sexe influence la réponse, l'animal mâle réagissant mieux que l'animal femelle ceci étant dû aux interactions "œstrogènes-calcitonine" [HINDE & Coll. (102), PHILLIPO & Coll. (184)] .

La méthode que nous avons utilisée est donc fondée sur l'évaluation de la chute du calcium plasmatique induite par une injection de calcitonine, dans des conditions telles que les critères pré-cités soient satisfaits.

Les animaux utilisés sont de jeunes rats mâles.

La calcitonine est injectée par voie intraveineuse à raison de 200 mU MRC par 100 gramme de poids de Rat.

Le sang est prélevé par voie aortique, 60 minutes après l'injection. La calcémie est déterminée par la méthode de complexométrie à l'EDTA, en présence de la calcéine.

La calcitonine, ainsi injectée, est préparée en dissolvant 88 unités MRC dans 100 ml d'une solution tampon d'acétate de sodium à 1 % pH 4 et renfermant 0,1 % de sérum albumine bovine pour stabiliser cette solution.

Dans l'expérimentation, chaque série est divisée en deux lots, l'un recevant de la calcitonine, l'autre recevant un volume égal de tampon acétate à pH 4.

V) - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES

L'étude histologique des cellules responsables de la sécrétion de calcitonine a fait appel aux techniques classiques utilisées en microscopie optique ainsi qu'aux techniques de microscopie électronique.

1 - ETUDE en MICROSCOPIE OPTIQUE.

La glande thyroïde est fixée, dès le prélèvement :

- soit dans le liquide de Bouin pendant 24 heures,
- soit dans du glutaraldéhyde à 6 %, également pendant 24 heures.

Après inclusion dans de la paraffine, l'organe est sectionné en coupes sériées de 5 μ d'épaisseur.

Les techniques de coloration utilisées sont à la fois des techniques très classiques telles que celles à l'Hémalun-éosine, et à l'Azan de Mallory de HEIDENHAIN, ainsi qu'une technique de coloration spécifique des cellules C préconisée, en 1967, par SOLCIA et SAMPIETRO (225).

Technique au Bleu de Toluidine.

Après déparaffinage et déshydratation, les coupes sont soumises à une hydrolyse acide (HCl à 1 % à 65°) pendant 3 heures si l'organe a été fixé au Bouin, et pendant 6 heures, si le fixateur est du glutaraldéhylde.

Les coupes sont ensuite lavées rapidement à l'eau distillée et mises pendant 5 minutes en contact avec du Bleu de Toluidine au 1/10.000

tamponné à pH 5 par un tampon de Mac ILVAINE à 0, 02 M (225).

L'intérêt de cette méthode, que nous avons souvent préférée aux colorations classiques de la glande thyroïde, est, qu'elle met nettement en évidence les cellules C, dont les granulations cytoplasmiques acquière une basophilie métachromatique après hydrolyse acide. En effet, sur des coupes de thyroïde colorées à l'Hémalun-éosine ou à l'Azan, les cellules C ne se distinguent des autres cellules thyroïdiennes que par leur cytoplasme pâle. Mais, étant donné qu'au cours de notre expérimentation nou avons dû les évaluer quantitativement, nous avons préféré cette technique, le pourcentage de ces cellules étant très faible, (1 % dans une thyroïde normale de Rat).

Cette méthode présente toutefois certaines limites dues à la très faibles affinité des autres cellules thyroïdiennes pour ce colorant. Aussi, pour l'évaluation quantitative des cellules C, nous n'avons pu établir leur pourcentage par rapport aux cellules de l'épithélium folliculaire et les avons dénombrées sur des coupes sériées et dans des territoires bien délimités.

B) - TECHNIQUES de MICROSCOPIE ELECTRONIQUE.

Les pièces sont fixées au glutaraldéhyde puis post-fixées à l'acide osmique.

Après déshydratation par des alcools de concentration croissant elles sont incluses dans de l'Epon 812, puis coupées au moyen d'un ultramicrotome Porter Blum MT2.

Une coloration à l'acétate d'Uranyle permet ensuite l'observation des coupes au microscope électronique.

VI) - CULTURE DE TISSUS

Nous avons étudié, au cours de ce travail, le rôle inhibiteur de la calcitonine sur le catabolisme osseux. Nous avons, pour cela, réalisé des cultures organotypiques de tissu osseux, notamment de calvariens (os frontal et pariétaux) de Rat.

Les techniques utilisées diffèrent essentiellement de celles de la culture histiotypique dont le but est de maintenir la survie et la prolifération de cellules indépendamment de l'organisme dont elles proviennent.

Dans le cas de la culture organotypique, il faut avant tout maintenir la cohésion entre les cellules d'un tissu, entre les tissus d'un organe, soit respecter la structure et éviter la prolifération anarchique de certains éléments.

PREPARATION des EXPLANTS.

Les organes devant être cultivés dans leur intégrité, il faut éviter tout traumatisme afin de conserver leurs caractéristiques et leurs constituants.

La Ratte gestante est sacrifiée par décapitation afin d'éliminer toute action d'anesthésique sur les fœtus. Ceux-ci sont ensuite disséqués en enceinte aseptique et en milieu humide, de préférence dans le milieu dans lequel ils doivent être cultivés, soit, pour ce travail, dans le milieu de Hanks . Les dissections se font à la température de la salle de culture.

I METHODE de CULTURE

Nous avons utilisé les techniques apprises chez GAILLARD (Leiden).

La méthode employée est celle des "Roller-tubes" dont l'intérêt par rapport aux techniques des "salières", est de permettre des cultures à long terme.

Cette méthode permet également de cultiver des tissus dans des volumes de milieu nutritif relativement peu importants.

La rotation des tubes étant de l'ordre de 8 révolutions à l'heure dans une enceinte à 37°, un échange égal de nutrition et de pertes est assuré entre le milieu et l'explant.

Les calvariens sont fixés sur un support constitué par une mince couche de coagulum de plasma de coq située sur la paroi latérale du tube, à 2 cm du fond.

Il s'agit donc d'un système à deux phases :

1 - une phase semi-solide : le plasma,

2 - une phase liquide pouvant être introduite et renouvelée à volonté suivant la nature de l'expérimentation.

- PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Le pouvoir inhibiteur de la calcitonine sur le catabolisme osseux a été étudié en évaluant la quantité de ^{45}Ca libéré dans le milieu de culture, par l'os préalablement marqué.

Au 19ème jour de gestation, 40 μCi de ^{45}Ca sont injectés à la Ratte gestante.

Au 21ème jour, les fœtus sont prélevés et mis en culture dans un milieu synthétique : milieu de Hanks auquel sont ajoutées des protéines par l'addition de sérum humain.

Le milieu standard se compose donc de :

-milieu de Hanks 85 %

- sérum humain 15 %

La fraction hormonale (parathormone, calcitonine ou thyroxine) introduite dans le milieu standard est toujours concentrée dans un très faible volume de l'ordre de 0,2 ml pour 10 ml de milieu standard.

Le milieu de culture (1 ml par tube) est changé après 48 heures.

Des prélèvement de 20 μl de milieu sont effectués toutes les 12 heures et la courbe de libération de ^{45}Ca dans le milieu de culture est établie. Ces prélèvement, déposés sur une capsule métallique sont ensuite comptés au moyen d'un compteur à rayonnements β (Nuclear-Chicago).

En fin de culture, les explants sont lavés rapidement dans le milieu de Hanks puis fixés dans du Bouin Hollande en vue d'un contrôle histologique.

TROISIEME PARTIE

RESULTATS EXPERIMENTAUX

ETUDE SUR L'ORIGINE DE LA CALCITONINE

INFLUENCE DE L'HYPOPHYSE SUR SA SECRETION

ORIGINE DE LA CALCITONINE

En 1965, la controverse au sujet de l'origine même de la calcitonine était soulevée.

Certains auteurs lui assignaient une origine parathyroïdienne (46) (47), d'autres situaient son site d'élaboration au niveau thyroïdien (103) (129).

Enfin, CARE & Coll. (34) (36) (37) postulaient l'existence de deux facteurs hypocalcémiants distincts, l'un d'origine thyroïdienne, l'autre d'origine parathyroïdienne.

En présence de cette controverse, nous avons, la même année, envisagé ce problème par l'étude de l'action d'extrait parathyroïdien chez des animaux dépourvus ou non de l'appareil thyroparathyroïdien (65).

I) Processus expérimental.

L'expérimentation a porté sur trois séries de 16 rats répartis de la manière suivante :

Série I : rats témoins.

Série II : rats parathyroïdectomisés.

Série III : rats thyroparathyroïdectomisés.

Chacune des séries est ensuite divisée en deux lots :

- lot A : rats recevant par voie sous-cutanée 2 ml d'une solution de ClNa à 9 pour 1.000

- lot B : animaux recevant la même quantité d'extrait parathyroïdien "Parathormone Lilly" soit 100 USP par 100 grammes de Rat.

Ces injections sont réalisées immédiatement après l'ablation chirurgicale, et, le sang est prélevé sur héparine (Roche), par voie aortique, sous anesthésie profonde, 6 heures après l'injection.

Les dosages plasmatiques de calcium sont alors effectués par complexométrie à l'EDTA.

II) - Résultats.

L'ensemble de nos résultats (moyenne de huit animaux pour chaque groupe est rapporté dans le schéma n° 8).

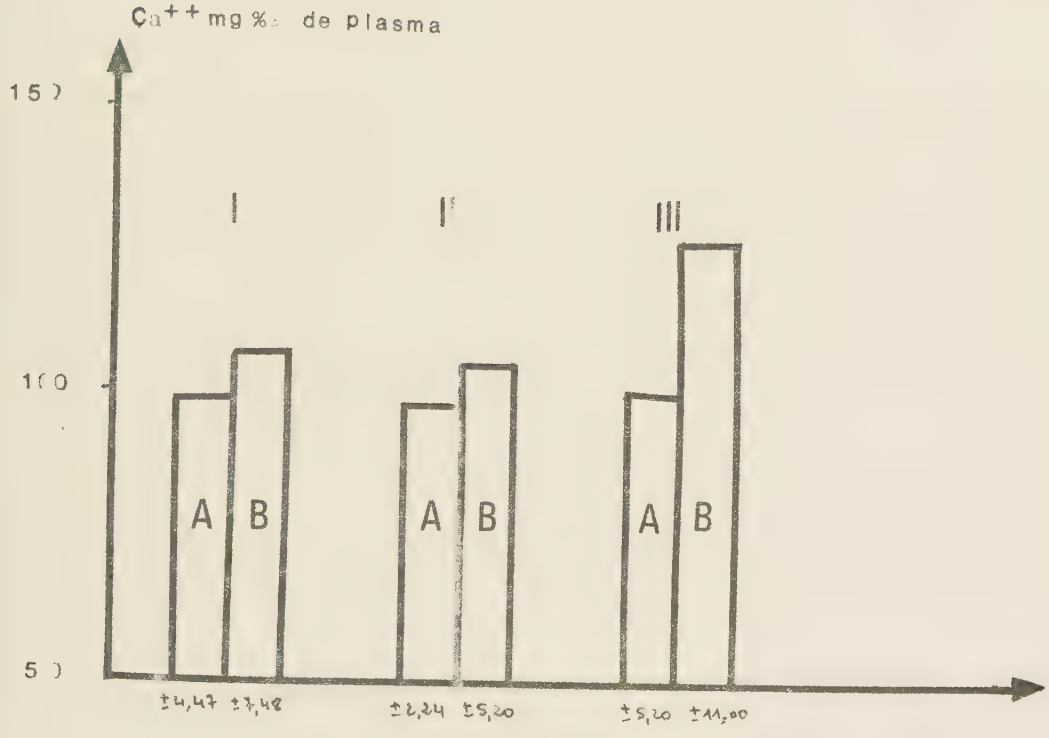
L'injection d'extrait parathyroïdien augmente le taux de calcium plasmatique dans les lots B de chacune des séries.

Cette augmentation est cependant nettement supérieure pour le lot B de la série III, soit dans le cas de la thyroparathyroïdectomie

Elle est sensiblement identique à celle des témoins pour le lot B de la série II : rats parathyroïdectomisés.

Discussion.

La parathormone détermine chez les animaux thyroparathyroïdectomisés une hypercalcémie supérieure à celle qu'elle induit chez les animaux parathyroïdectomisés.



- Série I : Rats normaux.
- Série II : Rats parathyroïdectomisés.
- Série III : Rats thyroparathyroïdectomisés.

- Lot A — animaux recevant 2ml de ClNa à 9 ‰.
- Lot B — animaux recevant 2ml de Parathormone Lilly.

schéma n°8

La glande thyroïde, chez ces derniers, vient donc contre-balancer l'action de la parathormone, et, ceci est en accord avec les expériences de perfusion de la thyroïde de Chèvre par du sang riche en calcium. FOSTER & Coll. (7).

Ces résultats étaient toutefois en contradiction avec ceux de COPP et CAMERON (47).

Il apparaissait donc, en accord avec HIRSCH & Coll. (103), FOSTER & Coll. (7), BAGHDIANTZ & Coll. (17), et TALMAGE & Coll. (231), que la calcitonine était bien d'origine thyroïdienne, ce qui fut par la suite confirmé au niveau cellulaire.

Comme nous l'avons mentionné, lors du rappel de l'embryogénèse des cellules C, le problème de l'origine de la calcitonine fut remis en question lors de la mise en évidence de l'origine ultimobranchiale de ces cellules.

L'hormone sécrétée est toutefois de nature thyroïdienne chez les mammifères, bien que GALANTE & Coll. (83*) aient mis en évidence, chez l'Homme, des cellules C dans le thymus et les parathyroïdes.

INFLUENCE DE L'HYPOPHYSE SUR LA SECRETION DE CALCITONINE

L'hypophyse contrôlant la production des hormones thyroïdienne iodées par l'intermédiaire de la thyréostimuline, la découverte d'une nouvelle hormone thyroïdienne à action hypocalcémiante, posait le problème de savoir si l'hypophysectomie qui inhibe la synthèse des hormones thyroïdiennes iodées, à quelque influence sur l'élaboration de la calcitonine.

Dès 1965, (16) nous avons étudié ce problème parallèlement à l'étude de l'origine de la calcitonine.

Processus expérimental.

Ce processus est identique au précédent.

Les animaux sont répartis en quatre séries :

Série I : rats témoins.

Série II : rats hypophysectomisés selon la technique décrite.

Chaque série comprend deux lots :

- un lot A recevant par voie sous-cutanée 2 ml d'une solution de ClNa à 9 pour 1.000.
- un lot B recevant la même quantité de parathormone Lilly.

Les injections n'étaient pas réalisées immédiatement après l'intervention chirurgicale, mais après un laps de temps de 10 jours. Le

sang était alors prélevé, sur héparine, sous anesthésie profonde et par voie intra-aortique. Le dosage de calcium plasmatique était effectué par complexométrie à l'EDTA.

Résultats.

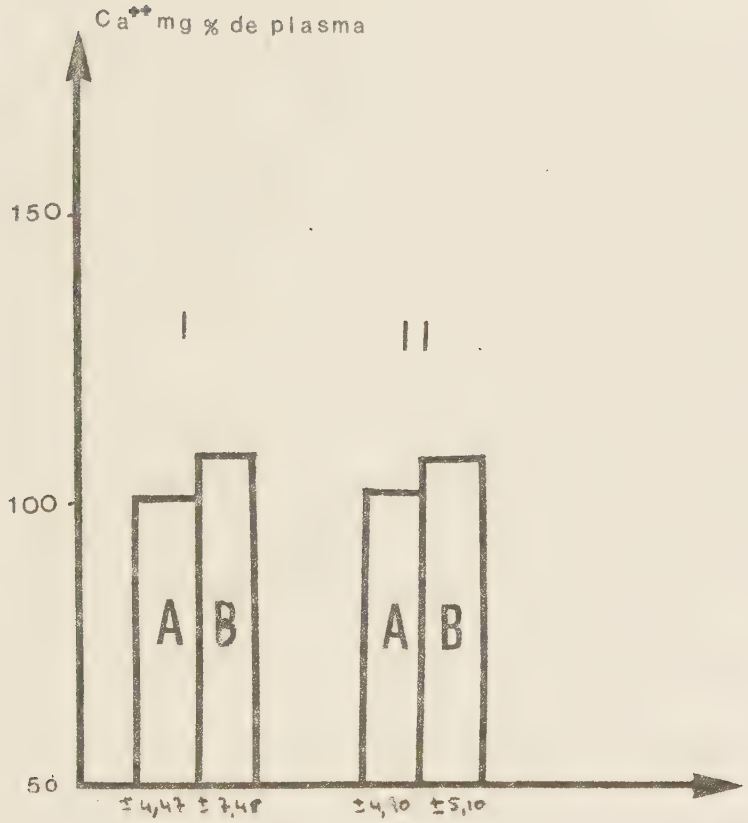
Les résultats obtenus sont représentés dans le schéma n° 9, et montrent pour une moyenne de huit animaux dans chaque lot que la calcémie des rats hypophysectomisés recevant de la parathormone est sensiblement identique à celle des témoins.

Donc, la thyroïde du Rat hypophysectomisé contrebalance l'hypercalcémie aussi bien que celle du Rat normal.

Ces résultats sont en accord avec ceux de MILHAUD et Coll. (154) qui la même année, étudièrent également le rôle éventuel de l'hypophyse sur l'activité hypocalcémiante de la glande thyroïde.

Ces auteurs apprécièrent indirectement la formation des dérivés iodés en mesurant la captation d'iode 131 par la glande thyroïde, et estime la teneur en calcitonine en mesurant l'hypocalcémie provoquée par l'injection d'extrait de thyroïde de Rat hypophysectomisé à des rats normaux à jeun.

MILHAUD & Coll. (154) en concluaient que l'hypophysectomie ne modifie pas la teneur en calcitonine quatorze jours après l'ablation de la glande, alors que la fixation d'iode 131 est devenue négligeable.



- Série I - Rats normaux.
- Série II - Rats hypophysectomisés.

- Lot A - animaux recevant 2 ml de ClNa à 9‰.

- Lot B - animaux recevant 2ml de Parathormone Lilly.

schéma n°9

De cette première étude physiologique, nous pouvions conclure que l'hypophysectomie semblait dissocier les deux fonctions endocrines de la thyroïde et que le maintien d'une calcémie normale chez le Rat hypophysectomisé s'expliquait donc par le maintien de l'activité des deux facteurs hormonaux antagonistes et indépendants de l'hypophyse : la parathormone et la calcitonine.

Mais la suppression de la thyréostimuline modifiant profondément l'histologie thyroïdienne, il se posait le problème de savoir ce que devenaient les cellules C chez le Rat hypophysectomisé, étude envisagée dans la troisième partie de ce travail.

ETUDE DU METABOLISME CALCIQUE

CHEZ LE RAT HYPOTHYROIDIEN

INFLUENCE DE LA THYROXINE

SUR L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE LA CALCITONINE

De la physiologie de la calcitonine, il ressort que l'action la plus importante est l'inhibition du catabolisme osseux.

Toute augmentation de l'ostéolyse induite par l'administration de parathormone ou de vitamine D détermine une activité accrue de la calcitonine exogène. [MITTLEMAN & Coll. (162)] .

De même, un blocage du catabolisme osseux par surcharge calcique empêche la calcitonine exogène d'agir. [MILHAUD & Coll. (161), MITTLEMAN & Coll. (162)] .

D'autre part, la thyroxine administrée seule au Rat thyroparathyroïdectomisé augmente le fond commun calcique, l'anabolisme et le catabolisme osseux, la quantité de calcium ingérée ; elle est sans action sur la calcémie, l'absorption intestinale et le bilan. [MILHAUD & Coll. (161)].

L'action hypocalcémiante de la calcitonine étant conditionnée par le niveau du catabolisme osseux, et, des troubles latents du métabolisme calcique pouvant être mis en évidence au cours de certaines affections thyroïdiennes (124), il se pose le problème des interactions éventuelles de la thyroxine et de la calcitonine dans la régulation calcique.

C'est ce que nous avons étudié dans cette deuxième partie, en réalisant une hypothyroïdie qui peut être induite :

- par un régime carencé en iode,

- par l'administration quotidienne d'un antithyroïdien de synthèse: le propylthiouracile.

Dans un premier temps, la méthode des bilans calciques au moyen de calcium 45 nous a permis d'apprécier l'importance de la thyroxine dans le métabolisme calcique du Rat, celle de la calcitonine étant ensuite abordée par l'étude de l'action de la calcitonine exogène seule ou associée à la thyroxine.

MISE EN EVIDENCE DE L'IMPORTANCE DE LA THYROXINE DANS LE METABOLISME DU CALCIUM AU MOYEN DU BILAN CALCIQUE AU ^{45}Ca.

La méthode précédemment décrite, du bilan calcique au moyen de ^{45}Ca, a été appliquée à des lots homogènes de 10 rats, quelques animaux supplémentaires étant destinés au contrôle histologique de l'involution de la thyroïde.

Les animaux ont été soumis durant un mois, soit au régime carencé en iode, type Remington modifié par SIMON, soit à l'administration quotidienne de 2, 5 ml par 100 grammes de poids d'une solution de 6-n-propylthiouracile à 1 pour 1.000. Il y a eu quelques pertes en cours d'expérimentation.

ETUDE DANS LE CAS D'UNE HYPOTHYROIDE INDUITE PAR CARENCE EN IODE

Les valeurs des différents paramètres du métabolisme calcique chez le Rat témoin sont données dans le tableau n° 1.

I) - Bilan calcique chez le Rat carencé en iode.

La comparaison des résultats obtenus (cf. tableau n° 2) avec ceux du Rat témoin permet d'établir les points suivants :

SIGNIFICATION DES DIFFERENTS PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE

P : fond commun calcique rapidement échangeable.

V_T : quantité totale de calcium sortant du fond commun P.

V_e : quantité de calcium fixé sur l'os ou détaché de l'os (échanges lents)

E : fond commun calcique lentement échangeable.

V_u : quantité de calcium excrété par le rein

V_f : quantité de calcium excrété par l'intestin.

F : calcium total des selles.

V_{o+} : anabolisme osseux.

Δ : bilan osseux.

V_{o-} : catabolisme osseux.

V_a : quantité de calcium absorbé

V_i : quantité de calcium ingéré.

α : coefficient d'absorption intestinale.

TABLEAU N° 1

V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
95	74	1,75	5,5	163	50	+35	15	42	200	21
72	57	1,01	7,2	83	52	+16	36	24	100	24
86	79	0,86	4,9	90	84	+19	65	25	100	25
144	85	0,72	4,7	114	78	+18	60	24	133	18
67	50	0,48	3,6	138	64	+51	14	55	189	29
90	59	0,47	4,7	151	70	+25	45	30	176	17
78	47	0,06	6,1	94	45	+22	23	28	116	24
91	76	0,42	5,4	111	36	+25	12	30	136	22
95	61	0,80	4,8	132	51	+24	27	30	157	19
107	100	1,70	5,2	138	57	+33	23	40	173	23
124	114	1,52	5,3	75	59	+31	27	36	108	35
94,14	75,00	0,96	5,23	116,54	54,71	+26,06	27,2	32,67	144,36	23,17
±6,09	±8,33	±0,37	±0,56	±20,43	±4,99	±4,45	±6,12	±5,24	±24,51	±3,37

PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE RAT TEMOIN

TABLEAU N° 2

	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	Vi	α
	91	85	13	4,4	55	38	32	6	51	100	51
	114	53	3	2,4	29	37	39,4	7,6	44	71	62
	106	67	4	4,2	37,5	33	28,5	4,5	35,5	70	51
	76	47	17	5,9	55	40	37,6	2,4	60,6	110	55
	78	79	12	4,2	59	36	29	7	45	100	45
	45	32	14	3,6	37	26	23	3	41	74	55
	71	58	15	9,2	51	11	8,5	2,5	32,5	75	43
3	79	56,25	14,2	4	46,14	34,6	31,5	4,71	48,2	85,71	51,40
23	$\pm$ 13,55	$\pm$ 13,46	$\pm$ 2,30	$\pm$ 0,42	$\pm$ 10,91	$\pm$ 6,77	$\pm$ 6,48	$\pm$ 2,03	$\pm$ 6,27	$\pm$ 15,46	$\pm$ 5,13
			Comparaison avec le témoin								
	—	—	↗	↘	↘	↘	—	↘	↗	↘	↗

AMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE RAT CARENCE EN IODE.

1) - Le fond commun calcique P est augmenté chez le Rat carencé en iode, de même que la quantité de calcium absorbé par l'intestin. (V_a et α).

2) - La calciurie présente une augmentation très importante 0,96 mg pour 1.000 chez le témoin, 14,2 chez l'animal carencé.

3) - Les valeurs E et V_e, soit le compartiment lentement échangeable et les échanges entre celui-ci et le compartiment P ne présentent pas de différences vraiment significatives par rapport aux témoins.

4) - Au niveau de l'os, nous notons une diminution de l'ostéogénèse V_{o+} et un effondrement de l'ostéolyse V_{o-}.

5) - Enfin, l'animal carencé en iode présente une hypercalcémie de 122,16 mg pour 1.000 contre 95,8 mg pour 1.000 chez le témoin.

Discussions.

- L'augmentation du fond commun P est en rapport avec l'hypercalcémie notée chez cet animal carencé.

- Cette hypercalcémie peut être due à la fonction parathyroïdienne la thyroxine étant sans effet sur la calcémie, son déficit ne peut rompre l'homéostasie calcique. Cependant, cette augmentation de la calcémie semble plutôt liée à l'accroissement de l'absorption intestinale pouvant

s'expliquer, soit par l'action de la parathormone, soit par le déficit en hormones thyroïdiennes. FRIEDLAND & Coll. (75), AUBERT & Coll. (11) ont, en effet montré qu'une diminution de l'absorption intestinale survenait au cours de l'hyperthyroïdie chez le Rat. Il semble que ce soit ce second facteur qui puisse expliquer l'accroissement de l'absorption intestinale, l'hypercalcémie devant inhiber la fonction parathyroïdienne.

- L'hypercalciurie est plus difficilement interprétable. Elle peut être due à l'absence d'hormone thyroïdienne, une néphrocalcinose étant observée d'une façon inconstante au cours de l'hypothyroïdie chez l'Homme. [ROYER & Coll. (208), JOB & Coll. (112) (114), DUBOIS & Coll. (59)] .

De même, MATHIEU & Coll. (148) ont induit une lésion rénale identique chez le Rat thyroïdectomisé dès la naissance au moyen de l'iode 131.

Elle peut également s'expliquer par un certain trouble du métabolisme de la vitamine D dont l'hypothyroïdie diminuerait le catabolisme [ROYER & Coll. (207)].

Enfin, ce phénomène peut être dû simplement à l'état d'hypercalcémie prolongée, l'action hypercalciurique de la parathormone ne pouvant être envisagée.

- La diminution de l'ostéogénèse, et plus précisément l'effondrement de l'ostéolyse constituent le point essentiel de ces résultats.

Il faut cependant noter que le bilan calcique $\Delta = V_{o+} - V_{o-}$ ne présente pas de variation significative malgré l'effondrement de V_{o-}.

Ceci peut toutefois s'expliquer par l'hypercalciurie déterminant une fuite supplémentaire de calcium.

L'effondrement de l'ostéolyse peut être expliqué par les trois facteurs suivants :

- l'absence de PTH,
- l'hypersécrétion de calcitonine,
- l'inhibition parathyroïdienne.

En conclusion, le bilan calcique du Rat carencé en iode traduit un certain état de surcharge calcique provenant de l'accroissement de l'absorption intestinale. On peut penser que l'hypercalcémie consécutive entraîne une inhibition de la fonction parathyroïdienne.

Afin de maintenir la fonction parathyroïdienne, nous avons fait une étude similaire chez le Rat carencé en iode et en calcium.

II - Bilan calcique chez le Rat carencé en iode et en calcium.

Les résultats obtenus (cf. tableau n° 3) comparés à ceux du bilan de l'animal carencé seulement en iode montrent que :

1 - la valeur du flux commun P est [illegible] du Rat témoin.

2 - la calciurie V_u et le calcium fécal endogène V_f sont diminués d'une manière significative.

3) - le Turn-over est accéléré.

TABLEAU N° 3

V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
101	83	0,13	0,90	4	25	+11	14	12	15	79
106	54	0,13	0,20	12	34	+12	22	12	24	49
82	108	0,05	0,55	11	22	+ 7	15	8	18	44
117	116	0,16	2,10	4	33	+ 5	28	7	9	71
84	52	0,46	2,9	4	22	+11	12	11	15	88
102	70	0,53	0,80	5	16	+ 4	12	6	10	60
46	23	0,27	0,80	5	24	- 3	27	2	2,7	73
95	73	0,17	0,77	6,43	23,25	8,33	15	9,7	13,29	70,25
$\pm$ 13,82	$\pm$ 28	$\pm$ 0,08	$\pm$ 0,18	$\pm$ 3,25	$\pm$ 2,38	$\pm$ 3,43	$\pm$ 3,11	$\pm$ 2,10	$\pm$ 6,53	$\pm$ 11
—	—	Comparaison avec le carencé en iode.								
—	—	↘	↘	↘	↘	↘	↗	↘	↘	↗

PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE

CHEZ LE RAT CARENCE EN IODE et CALCIUM.

4)- l'ostéogénèse est légèrement diminuée et la vitesse d'ostéolyse augmentée, sa valeur étant sensiblement égale à la moitié de la normale.

Discussions.

La diminution du fond commun P dont la valeur tend vers la normale peut s'expliquer par la carence en calcium du régime.

La baisse très significative de la calciurie et du calcium fécal endogène suggère que le facteur responsable de l'hypercalciurie, chez le Rat carencé en iode, est essentiellement la surcharge calcique prolongée.

Enfin, l'absence d'hypercalcémie chez l'animal carencé en iode et en calcium s'explique, (malgré un coefficient d'absorption intestinale élevé) par la diminution de la quantité même de calcium absorbé, ce qui maintient la fonction parathyroïdienne.

Cette même fonction est probablement le facteur déterminant l'augmentation de V_{o-}, l'absence de thyroxine pouvant expliquer la différence de valeur avec celle du Rat témoin. MILHAUD & Coll. (153) ont en effet montré l'effet additif de la parathormone et de la thyroxine sur le catabolisme osseux.

Afin de déterminer le rôle exact revenant à la thyroxine, nous avons effectué des bilans calciques chez le Rat carencé en iode, supplémenté en thyroxine.

III - Bilan calcique chez le Rat carencé en iode, supplémenté en thyroxine.

La carence étant vérifiée par l'histologie de la glande thyroïde, les animaux sont soumis pendant huit jours à une injection intramusculaire de 20 μg de thyroxine. Des rats témoins reçoivent également de la thyroxine dans les mêmes conditions avant d'être soumis au bilan calcique.

A) Chez le Rat témoin recevant de la thyroxine.(cf. tableau n°4)

Le bilan traduit l'action caractéristique de cette hormone notamment au niveau osseux.

On note une augmentation du fond commun P et de l'intensité des échanges lents V_e entre les deux compartiments du fond commun calcique.

D'autre part, l'intensité accrue de l'ostéolyse et de l'ostéogénèse tend à rendre le bilan moins positif.

B) Chez le Rat carencé en iode supplémenté en thyroxine. (cf. tableau n° 5).

1) L'intérêt des résultats obtenus est surtout centré sur le fait que l'administration de thyroxine ramène la vitesse d'ostéolyse à la normale et diminue l'hypercalcémie induite par la carence en iode.

2) Le fond commun P est diminué et égal à celui du témoin. E ne présente pas de variation significative malgré un taux de renouvellement $\frac{V_e}{E}$ augmenté.

TABLEAU N° 4

	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
	100	62	0,31	5	131	62	21	42	26	152	17
	112	67	0,39	7	138	69	20	49	27	158	17
	152	70	0,41	4	128	69	18	51	22	146	15
	122	66	0,27	5	131	64	19	45	24	150	16
5	121,5	66,25	0,34	5,25	132	66	19,5	46,75	24,75	151,5	16,25
0	$\pm$ 15,3	$\pm$ 5,28	$\pm$ 0,11	$\pm$ 2	$\pm$ 6,75	$\pm$ 5,66	$\pm$ 2,06	$\pm$ 6,43	$\pm$ 3,56	$\pm$ 7,95	$\pm$ 3,18
	Comparaison avec le témoin										
	—	—	↘	—	—	↗	↘	↗	↘	—	↘

PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE TEMOIN

RECEVANT DE LA THYROXINE.

TABLEAU N° 5

T	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
4	145	79	11	3	93	50	13	37	27	122	22
5	94	105	10	4	84	31	6	25	20	100	20
4	168	82	2	1	76	60	22	39	25	100	25
8	167	76	11	3	119	54	29	25	43	159	27
4	153	216	11	3	74	70	15	54	30	100	30
8	176	74	10	3	83	45	20	25	33	113	29
, 5	161, 8	77, 75	10, 8	3, 2	83	52, 25	17, 5	30, 2	29	107	25, 75
, 55	$\pm$ 15,52	$\pm$ 5, 57	$\pm$ 1, 04	$\pm$ 0, 6	$\pm$ 11, 60	$\pm$ 10, 01	$\pm$ 6, 68	$\pm$ 8, 88	$\pm$ 5, 03	$\pm$ 12, 54	$\pm$ 4, 77
	Comparaison aux "Carencés en iode"										
	↗	↗	–	–	↗	↗	↘	↗	↘	–	↘
	Comparaison aux "Témoins"										
-	↗	–	↗	↘	–	–	–	–	–	↘	–

ARAMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE RAT CARENCE EN IODE

SUPPLEMENTE EN THYROXINE

3) Enfin, l'absorption intestinale, accrue au cours de la carence en iode, semble retomber à une valeur normale.

Discussions.

La valeur de P identique à celle du témoin est probablement liée au retour à la normale de l'absorption intestinale, ce qui détermine secondairement une baisse de l'hypercalcémie.

Au niveau urinaire, la variation peu significative de l'hypercalciurie semble liée au problème de l'antagonisme de la parathormone et de la thyroxine au niveau rénal.

TODD & Coll. (241) ont, en effet, montré que, chez la Vache thyroparathyroïdectomisée, puis supplémentée en thyroxine, l'administration de parathormone entraîne une hypercalciurie.

De même, MILHAUD & Coll. (158) montrent que l'injection de thyroxine au Rat thyroparathyroïdectomisé entraîne une hypocalciurie. Par contre, l'injection simultanée de parathormone et de thyroxine rétablit une calciurie normale.

Dans le cas du Rat carencé en iode, l'hypercalciurie est apparue comme pouvant être liée au seul facteur de surcharge calcique prolongée bloquant secondairement la fonction parathyroïdienne, ceci semble d'ailleurs devoir être confirmé par le bilan calcique de l'animal carencé en iode et en calcium.

Chez le Rat carencé en iode, supplémenté en thyroxine, la fonction parathyroïdienne doit normalement réapparaître par suite du retour de la calcémie vers la normale. L'injection de thyroxine devrait

TABLEAU N° 6

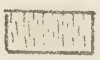
V_T	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	$\triangle$	V_{o-}	V_a	V_i	α
1, 11	94, 14	75, 00	0, 96	5, 23	116, 54	54, 71	26, 06	27, 2	32, 67	144, 36	23, 17
4, 5	± 6, 09	± 8, 33	± 0, 37	± 0, 56	± 20, 43	± 4, 99	± 4, 45	± 6,12	± 5, 24	± 21, 51	± 3, 17
8, 6	7	56, 25	14, 2	4	46, 14	34, 6	31, 5	4, 71	43, 2	85, 71	51, 40
, 83	-13, 55	-13, 46	-2, 39	-0, 42	-10, 91	-6, 77	-6, 48	-2, 03	-7, 27	-15, 46	-5, 13
1, 75	121, 5	66, 25	0, 34	5, 25	132	66	19, 5	46, 75	24, 75	151, 5	16, 25
3, 70	± 35, 3	± 5, 23	± 0, 11	± 2	± 6, 75	± 5, 66	± 2, 06	± 6, 43	± 3, 56	± 7, 95	± 3, 18
3, 5	101, 8	77, 75	10, 8	3, 2	83	52, 25	17, 5	30, 2	29	107	25, 75
6, 55	± 15, 52	± 5, 57	± 1, 04	± 0, 6	± 11, 60	± 10, 01	± 6, 68	± 8, 88	± 5, 03	± 12, 54	± 4, 77
6, 6	95	73	0, 17	0, 77	6, 43	23, 25	8, 33	15	9, 75	13, 28	70, 25
± 5, 30	± 13, 82	± 28	± 0, 08	± 0, 18	± 3, 25	± 2, 38	± 3, 43	± 5, 11	± 4, 10	± 6, 53	± 14

yennes sont affectées d'un intervalle de confiance pour $P \leqslant 0,05$

TABLEAU RECAPITULATIF

Représentation schématique de la valeur des différents paramètres du métabolisme calcique chez:

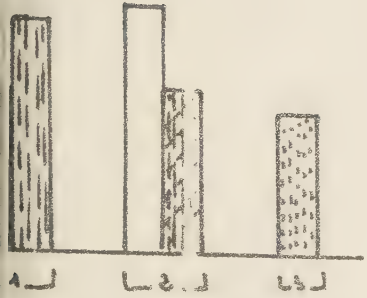
1 - le Rat normal.

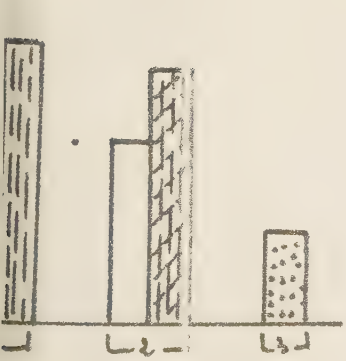
le Rat normal recevant de la T_4. 

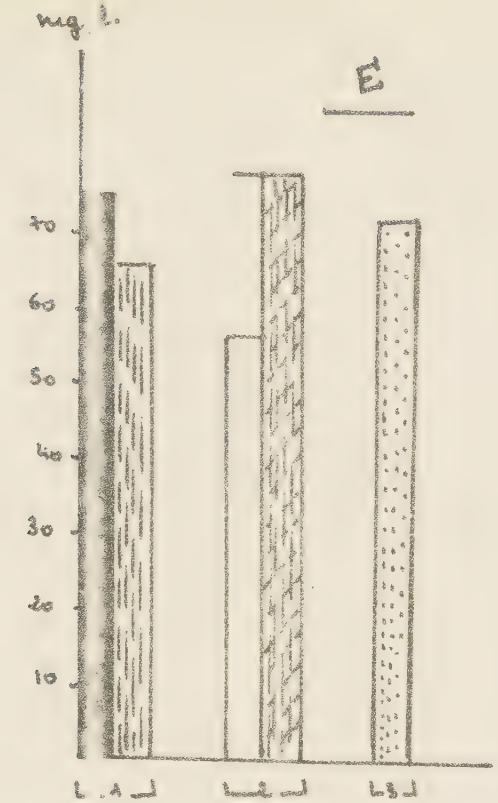
2 - le Rat carencé en iode.

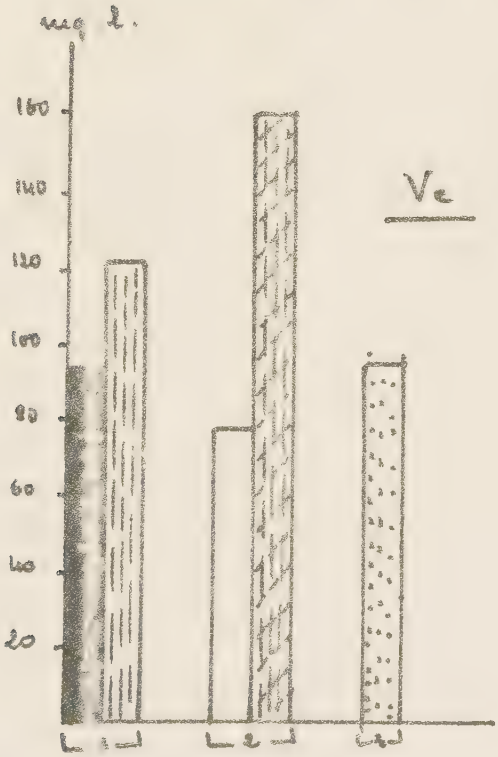
le Rat carencé en iode supplémenté en T_4

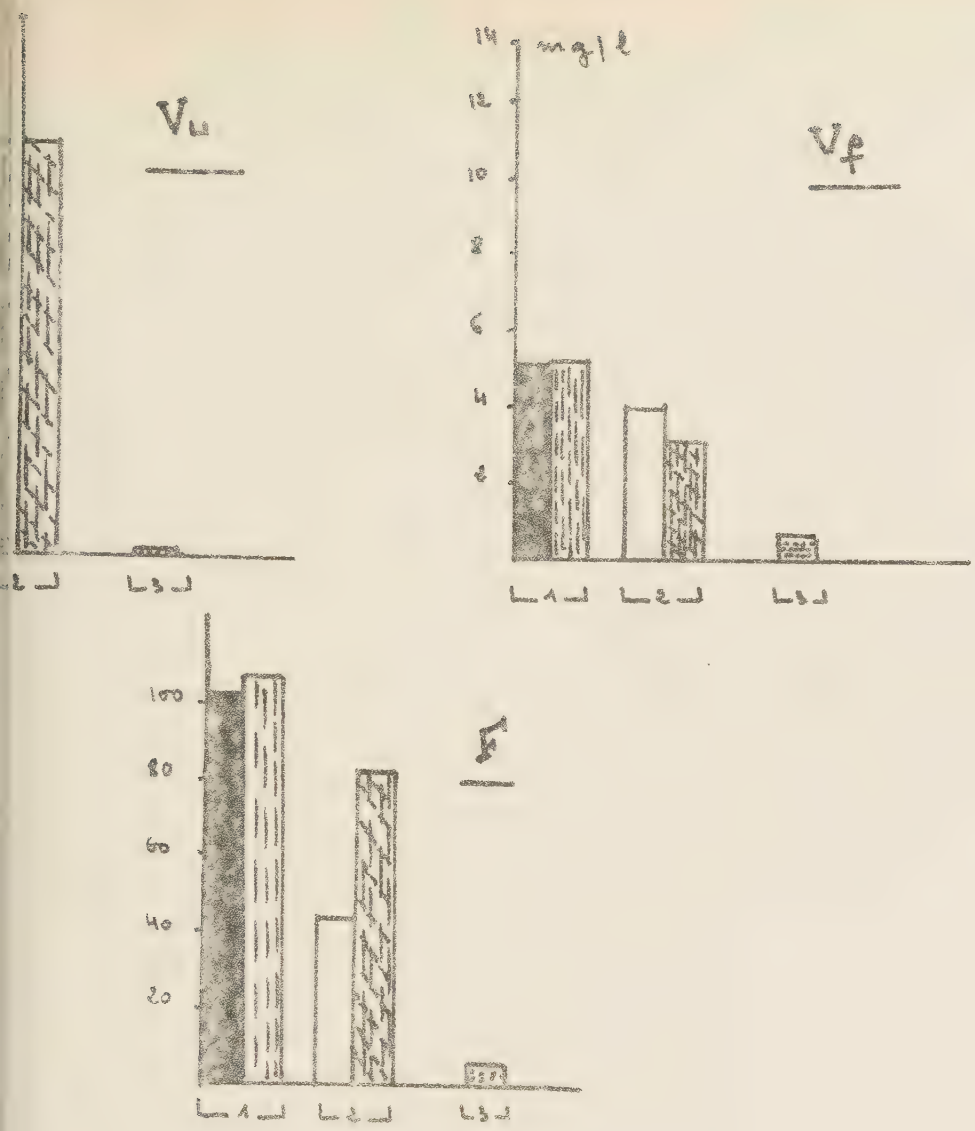
3 - le Rat carencé en iode en calcium.

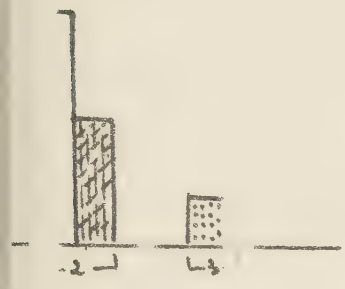


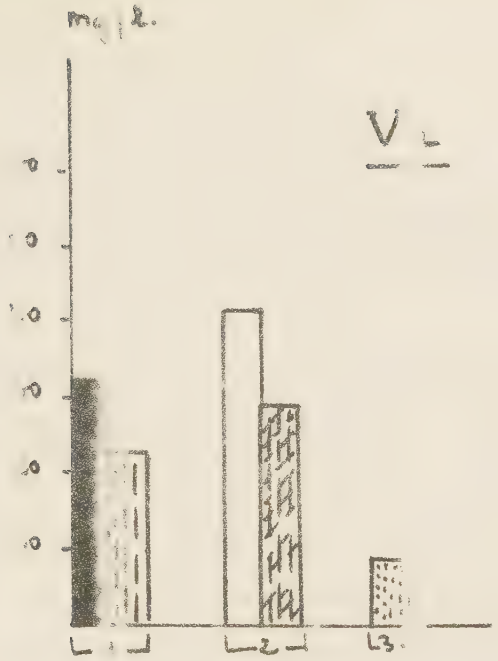


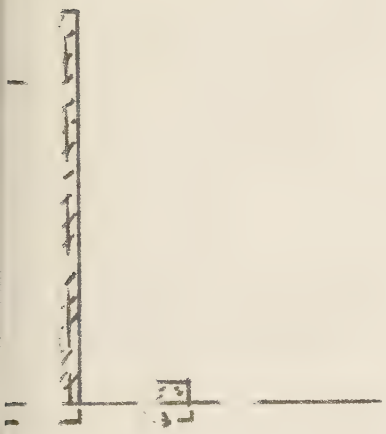

mg l.
E
70
60
50
40
30
20
10

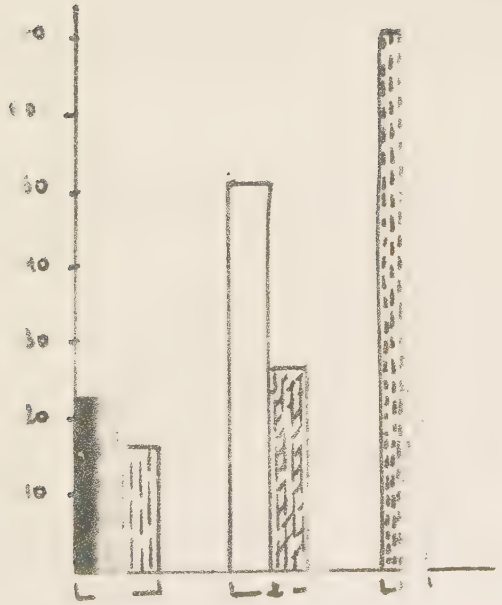

mg l.
Ve
160
140
120
100
80
60
40
20


mg/l
14
12
10
8
6
4
2
100
80
60
40
20
50
40
30
20
10









donc tendre à rétablir une calciurie normale.

L'hypercalciurie non escomptée peut donc être due soit à un facteur "temps", soit à un facteur "dose", soit aux deux réunis.

Le point le plus intéressant est toutefois le rétablissement de la vitesse d'ostéolyse sous l'action de la thyroxine.

Les travaux de MILHAUD & Coll. (158) montrent que l'effet additif de la thyroxine et de la parathormone rétablit le métabolisme osseux chez le Rat thyroparathyroïdectomisé sans que la calcémie atteigne cependant sa valeur normale, résultats en accord avec les nôtres et laissant suggérer une indépendance relative du métabolisme osseux vis-à-vis de la calcémie.

En conclusion, le manque de thyroxine apparaît comme étant le facteur prépondérant des troubles du métabolisme calcique chez le Rat hypothyroïdien par carence en iode et principalement de l'excès du bilan calcique dû à une très nette diminution du catabolisme osseux. (Cf. tableau n° 6).

) - ETUDE DANS LE CAS D'UNE HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR UN ANTI-THYROIDIEN DE SYNTHESE.

Nous avons refait le bilan calcique chez le Rat témoin de même âge que l'animal soumis au PTU et élevé dans les mêmes conditions environnantes (cf. tableau n° 7).

TABLEAU N° 7

V_T	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	A	V_{o-}	V_a	V_i	α
67,9	71,8	51	0,36	5,28	190	62,3	11,6	50,7	17,2	202	8,4
69,3	73,2	47,7	0,62	5,28	146	63,4	24	39,4	29,9	170	17,7
59,5	74,4	50	0,79	4,69	70	54,1	32	22,1	37,4	102	36,8
48,4	107	72,6	0,59	5,81	80	42	31	11	37,4	123	30,2
45,2	81,9	65,4	0,75	4,36	83	40,1	19	21,1	24,1	164	14,7
57,2	86,6	43,7	0,69	7,38	60	49,2	24	25,8	32	164	19,5
58	77	55	0,63	5,46	104	51,9	23,6	28,3	29,6	154	21,3
±9,76	±12,60	±10,90	±0,41	±0,51	±6,48	±9,56	±4,88	±5,65	±7,56	±35,62	±10,24

PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE RAT TEMOIN.

I - Bilan calcique chez le Rat traité au propylthiouracile (cf. tableau n° 8.)

1)- Les différents paramètres du métabolisme calcique ne présentant pas de variations significatives notamment la calcémie, le fond commun P, la calciurie et l'absorption intestinale.

2)- Seule la vitesse d'ostéolyse est diminuée sensiblement de moitié et le bilan $\Delta = V_{o+} - V_{o-}$ quelque peu modifié.

Discussions.

D'après nos résultats, le Rat traité au PTU et le Rat carencé en iode ne présentent pas les mêmes troubles du métabolisme calcique.

L'hypothyroïdie induite par le PTU ne s'accompagne pas d'un accroissement de l'absorption intestinale, ce qui peut expliquer la valeur normale de la calcémie.

La calciurie identique à celle du témoin est probablement due à l'absence de surcharge calcique prolongée que déterminait, chez le Rat carencé en iode, l'accroissement de l'absorption intestinale du calcium.

Deux facteurs peuvent être responsables de la valeur de la diminution de la vitesse d'ostéolyse, toutefois inférieure à celle obtenue chez l'animal carencé en iode :

1)-le degré d'hypothyroïdie obtenu par le traitement au PTU

TABLEAU N° 8

V_T	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
1,4	42,2	27,4	0,51	4,94	186	45,9	37	8,9	42,5	250	17
2,5	21,3	21,9	0,48	3,78	176	38,2	29	9,2	33,3	231	14,5
8,2	65,3	59,5	1,76	7,20	176	59,2	44	15,2	53	246	21,5
7,1	49,4	40,3	0,54	4,72	186	51,8	34	17,8	39,3	247	16,1
0,6	71,4	75	0,17	5,32	123	55,1	37	18,1	42,5	168	25,4
3,5	58,8	60,1	0,50	5,15	100	57,8	33	24,8	38,7	137	28,2
6,9	112,8	95,2	1,58	6,47	80	58,9	42	16,9	50	122	41
7,9	92,1	93,5	0,46	4,81	53	42,6	40	2,6	45,3	270	19
7,2	64,1	50,6	0,75	5,29	140	51,1	37	14,1	43,1	208	22,8
44	$\pm$13	$\pm$13,69	$\pm$0,15	$\pm$0,25	$\pm$6,78	$\pm$5,98	$\pm$3,91	$\pm$5,06	$\pm$5,09	$\pm$9,4	$\pm$9,20

PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE RAT TRAITE au PTU

2)- le maintien de la fonction parathyroïdienne par suite de l'absence d'hypercalcémie chez ce même animal.

La fonction parathyroïdienne étant maintenue, la diminution de l'ostéolyse peut s'expliquer par le fait même de l'action additive de la parathormone et de la thyroxine sur le catabolisme osseux (11).

Cependant, la divergence des résultats entre le bilan calcique du Rat carencé en iode et celui de l'animal traité au PTU, suggère une différence au niveau même de l'hypothyroïdie induite.

Les inhibiteurs utilisés agissent à des niveaux différents :

- la carence en iode au niveau de la captation des iodures par la glande thyroïde.

- le PTU en cours d'hormonogénèse.

Dès 1945, ASTWOOD (9) montrait que l'administration prolongée d'antithyroïdien réduisait considérablement la concentration en iode stable de la glande thyroïde.

En 1961- 1966, IIONO & Coll. (107) (108), SHIMODA & Coll. (218) conclurent que les antithyroïdiens inhibent davantage la synthèse des iodothyronines que celle des iodotyrosines.

En 1967, THOMAS, TUBIANA & Coll. (240) se basant sur des études cliniques montrent que si la synthèse des iodothyronines est réduite par le PTU, elle n'est cependant pas nulle et augmente avec le temps pour atteindre parfois des taux non négligeables expliquant la persistance d'une

d'une petite hyperthyroïdie malgré un traitement intensif.

Ces résultats se rapprochent d'ailleurs de ceux obtenus en 1962 par BLANQUET & Coll. (27) chez le Rat.

Il ressort de ceci, ainsi que de nombreuses autres études (107) (108) (218) que le PTU induit une hypothyroïdie moins bien définie que par la carence en iode, ce qui semble expliquer les divergences de résultats.

II - Bilan calcique chez le Rat traité au PTU supplémenté en thyroxine. (cf. tableau n° 9).

L'administration de thyroxine à l'animal hypothyroïdien par traitement au PTU n'a pas donné les résultats escomptés.

1)- V_{o-} présente une très faible variation non significative.

2)- le compartiment E et la vitesse d'échanges Ve sont augmentés.

Discussions.

De l'ensemble de ces résultats, il ressort que chez l'animal traité au PTU supplémenté en thyroxine, l'action de celle-ci semble se manifester au niveau de E.

Ce compartiment E, représente le calcium de la couronne hydratante ionisée située autour du cristal osseux et au niveau de laquelle les ions Ca^{++}, P_{O4}^{---}, OH^{-}, H^{+}, ne sont pas agencés sous forme d'hydroxyapatite. Il s'agit donc d'un compartiment au niveau duquel il existe des échanges réversibles de calcium 45, ceux-ci devenant irréversibles au

TABLEAU N° 9

V_T	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
50,4	105,6	84,8	0,58	4,72	70	45,1	14,4	30,7	19,7	85	28,1
39,9	69,3	70,7	0,27	4,04	80	35,6	30	5,6	34,3	155	22,1
28,8	124,8	132,8	0,78	6,23	76	21,8	20	1,8	27	160	16,9
45,9	110,4	114,3	0,37	4,39	90	41,2	0	41,2	4,7	80	5,9
63,1	90,2	73,3	1,58	3,50	87	58	26	32	31,1	126	24,9
25,8	111,1	158,7	0,56	3,63	76	21,6	21,6	0	25,8	130	19,7
42,5	126,3	119,6	0,33	4,42	163	37,7	30	7,7	34,8	284	12,3
42,3	105,3	107,5	0,63	4,41	90,0	37,3	20,3	17	25,3	145	17,8
$\pm$ 11,09	$\pm$ 17,71	$\pm$ 2,83	$\pm$ 0,15	$\pm$ 0,25	$\pm$ 1,48	$\pm$ 5,98	$\pm$ 3,91	$\pm$ 5,06	$\pm$ 1,26	$\pm$ 15,75	$\pm$ 9,20

PARAMETRES DU BILAN CALCIQUE CHEZ LE RAT TRAITE au PTU

SUPPLEMENTE en THYROXINE

niveau du cristal osseux, soit de l'os proprement dit sous forme d'hydroxyapatite.

De plus, l'administration de la thyroxine à un animal témoin augmente également les échanges V_c.

Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que chez l'animal traité au PTU et dans nos conditions expérimentales, la thyroxine exogène n'ait agit qu'au niveau du compartiment E, son action n'ayant pas atteint l'os proprement dit, d'où la valeur de V_{o-} ne présentant pas de modification significative.

L'interprétation de ce phénomène demeure toutefois difficile, la divergence de rapidité d'action de la thyroxine chez le Rat carencé en iode et chez le Rat traité au PTU pouvant être due à un facteur "temps" relatif à l'administration de cette hormone.

Ceci demande cependant une confirmation.

Conclusions.

Les bilans calciques au ^{45}Ca nous ont permis de mettre en évidence les troubles du métabolisme calcique au cours de l'hypothyroïdie expérimentale et d'étudier l'importance de la thyroxine dans la régulation calcique. (cf. Tableaux n° 6 et 10)

La divergence des résultats obtenus suivant le degré d'hypothyroïdie chez le Rat carencé en iode et chez l'animal soumis au PTU est toutefois en accord, soit avec des observations cliniques, soit avec des études expérimentales.

TABLEAU N° 10

	V_T	V_e	E	V_u	V_f	F	V_{o+}	Δ	V_{o-}	V_a	V_i	α
1	58,0	77,4	55,0	0,63	5,46	104,0	51,9	23,6	28,3	29,6	154	21,3
9	±9,76	±12,60	±10,68	±0,41	±0,51	±6,48	±9,76	±4,88	±5,65	±7,56	±35,6	±10,24
4	57,2	64,1	50,6	0,75	5,29	140	51,1	37,0	14,1	43,1	208	22,8
3	±6,42	±13	±13,69	±0,15	±0,25	±6,78	±5,98	±3,91	±5,06	±5,09	±51	±9,2
	71,75	121,5	66,25	0,34	5,25	132	66,0	19,5	46,75	24,75	151,5	16,25
9	±6,70	±15,3	±5,28	±0,11	±2	±6,75	±5,66	±2,06	±6,43	±3,56	±7,95	±3,1
1	42,3	105,3	107,7	0,63	4,41	90,0	37,3	20,3	17	25,3	145	17,8
86	±11,09	±17,71	±2,83	±0,15	±0,25	±1,48	±5,98	±3,91	±5,06	±1,26	±15,75	±9,26

oyennes sont affectées d'un intervalle de confiance pour P ≤ 0,05

TABLEAU RECAPITULATIF

Ainsi JOB & Coll. (113) observent l'existence d'une surcharge calcique chez l'enfant hypothyroïdien.

LOWE & Coll. (135), ROYER & Coll. (208) montrent qu'une surcharge calcique digestive ou veineuse détermine une hypercalcémie chez l'hypothyroïdien ; il en est de même dans l'hypothyroïdie chez le Rat. [LOWE & Coll. (135)] .

Ce dernier résultat est par contre en contradiction avec ceux de MATHIEU & Coll. (148), MILHAUD & Coll. (158), qui expérimentant chez le même animal, ne notèrent pas de phénomènes d'hypercalcémie.

Des variations plus ou moins importantes de la calciurie sont également observées au cours de l'hypothyroïdie infantile. [ROYER & Coll. (208), JEUNE & Coll. (111)] .

Enfin, le bilan calcique de l'enfant hypothyroïdien montre généralement, mais non toujours, un coefficient d'absorption intestinale élevé. [JEUNE & Coll. (111), ROYER & Coll (208)].

Cependant, de même que chez l'animal hypothyroïdien, l'excès plus ou moins important de l'anabolisme sur le catabolisme osseux parait être le fait majeur du bilan calcique de l'enfant hypothyroïdien. [JOB & Col (114)] .

Il se posait donc le problème de savoir quel rôle revient à la calcitonine au cours de ce syndrome pathologique ou expérimental, le

niveau du catabolisme osseux conditionnant l'action même de cette hormone.

Seule, l'épreuve à la calcitonine exogène pouvait nous permettre de relier les anomalies du métabolisme calcique notées au cours de l'hypothyroïdie expérimentale au défaut de production ou d'action des hormones thyroïdiennes : thyroxine d'une part, calcitonine d'autre part.

MISE EN EVIDENCE DU ROLE DE LA THYROXINE SUR L'EFFET HYPOCALCEMIANT DE LA CALCITONINE

Les bilans calciques ont montré que la thyroxine avait le même effet que la parathormone au niveau du catabolisme osseux.

Il est d'autre part établi que la calcitonine inhibe la résorption osseuse induite par la parathormone, et que cet antagonisme se situe au niveau même de l'os.

Aussi avons-nous abordé l'étude du rôle de la thyroxine sur l'effet hypocalcémiant de la calcitonine, en comparant la baisse de la calcémie induite par la calcitonine exogène et la valeur V_{o-} du catabolisme osseux donnée par les bilans calciques au ^{45}Ca.

A) - L'HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR CARENCE EN IODE.

I - Protocole expérimental.

L'action de la calcitonine exogène est étudiée chez des animaux soumis à un régime carencé en iode depuis un mois, l'état de carence étant contrôlé histologiquement.

Les animaux sont répartis en 5 séries soit :

Série I : rats témoins.

Série II : rats carencés en iode.

Série III : rats témoins recevant durant les huit jours précédant l'expérimentation une injection quotidienne de 20 µg de thyroxine.

Série IV : rats carencés en iode supplémentés en thyroxine dans les mêmes conditions que précédemment.

Série V : rats carencés en iode et en calcium.

Chacune des séries comprenant deux lots :

le lot A : recevant 0,2 ml de tampon acétate à 1 %, pH 4, par 100 grammes de poids.

le lot B : recevant une quantité égale de la même solution de calcitonine que dans la précédente étude : soit 200 mU MRC par animal.

La thyroxine est injectée après un mois de régime carencé en iode et à raison d'une injection quotidienne de 20 µg par animal et pendant huit jours.

Le sang est prélevé par voie aortique une heure après l'injection de calcitonine et la calcémie est dosée.

II - Résultats. (cf. tableau n° 11)

1 - chez le Rat témoin, l'injection de calcitonine détermine une baisse du calcium sérique oscillant autour de - 18 mg/l.

2 - cette hypocalcémie est beaucoup moins nette chez l'animal carencé en iode : la baisse est seulement de - 9,3 mg/l.

3 - l'injection de thyroxine à l'animal normal ne semble pas modifier sa calcémie. Cependant, l'action de la calcitonine exogène semble toutefois légèrement augmentée.

4 - en revanche, cette même thyroxine apparaît comme étant un facteur favorisant l'action de la calcitonine exogène chez le Rat carencé

TABLEAU N° 11

TABLEAU COMPARATIF DE L'ACTION DE LA CALCITONINE EXOGENE

Chez le Rat témoin (Série I),

le Rat carencé en iode (Série II),

le Rat témoin recevant de la thyroxine (Série III),

le Rat carencé en iode supplémenté en thyroxine (Série IV),

Le lot A reçoit : 0,2 ml de tampon acétate (T) par 100 gr de poids.

Le lot B reçoit : 0,2 ml de calcitonine (CT) par 100 gr de poids

La calcémie est exprimée en mg par litre.

TABLEAU N° 11

Série I Témoins		Série II Carencés en Iode		Série III Témoins + Thyroxine		Série IV Carencés en Iode + Thyroxine	
Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
Tampon	CT	Tampon	CT	Tampon	CT	Tampon	CT
104	88	124	114	98	78	110	106
104	98	116	114	98	80	110	100
106	88	116	104	96	78	118	88
104	80	112	110	98	82	118	90
104	84	112	104	100	82	114	90
104	86	108	105	104	76	99	89
100	94	119	195	100	80	99	84,5
100	84	116	105	102	86	103	90
111	86	108	102,5			107	90
105	86	108	107			94,5	
103	86	116	105			105	
107	84	122	101			111	
101	86	122	104				
109	88						
99							
104	86	115	106,3	99,5	79,75	108,3	92,2
$\pm$ -1,68	$\pm$ -1,70	$\pm$ -2,80	$\pm$ -2,10	$\pm$ -0,82	$\pm$ -0,63	$\pm$ -2,80	$\pm$ -4,69
Δ = - 18		Δ = -9,3		Δ = -19,75		Δ = -16,1	

en iode. Il faut cependant noter que :

- l'hypercalcémie observée chez celui-ci n'est que partiellement corrigée par la thyroxine.

- la calcitonine exogène détermine une diminution du calcium sérique se rapprochant de celui du témoin.

III - Discussions.

La carence en iode diminue le pouvoir hypocalcémiant de la calcitonine exogène que tend à rétablir l'administration de thyroxine.

Ceci est en accord avec les travaux de MILHAUD & Coll. (160) MITTLEMAN & Coll. (162), MARTIN & Coll. (147).

Cependant, le Rat carencé en iode et en calcium répond à l'injection de calcitonine avec une intensité voisine de celle notée chez l'animal carencé en iode, puis supplémenté en thyroxine ; ce fait ne semble pouvoir s'expliquer que par la considération du catabolisme osseux.

L'interprétation de ces résultats demande donc une comparaison avec ceux des bilans calciques notamment avec le paramètre V_{o-} (cf. tableaux n° 12 et 13).

Cette comparaison confirme que le pouvoir hypocalcémiant de la calcitonine est lié à un certain niveau de catabolisme osseux.

L'effondrement de ce catabolisme au cours de la carence en iode parait donc être le facteur responsable de l'importante diminution du pouvoir d'action de la calcitonine.

TABLEAU N° 12

Séries / Animaux	Valeur de V_{o-}	Calcémie		
		Tampon	Calcitonine	Δ Ca
I Témoins.	27,2 ± 6,12	104 ± 1,68	86 ± 1,70	- 18
II Carencés en iode.	4,71 ± 2,03	115 ± 2,80	106,3 ± 2,10	- 9,3
III Témoins + Thyroxine.	46,75 ± 6,43	99,5 ± 2,43	79,75 ± 4,91	- 19,75
IV Carencés en iode + Thyroxine	30,2 ± 8,88	108,3 ± 2,80	92,2 ± 4,69	- 16,1
V Carencés en iode et en calcium	15 ± 5,11	93,9 ± 2	78,5 ± 3,4	- 15,4

Tableau comparatif du niveau du catabolisme osseux (V_{o-}) et du Δ de calcium sérique produit par l'administration de calcitonine - cas de l'hypothyroïdie par carence en iode.

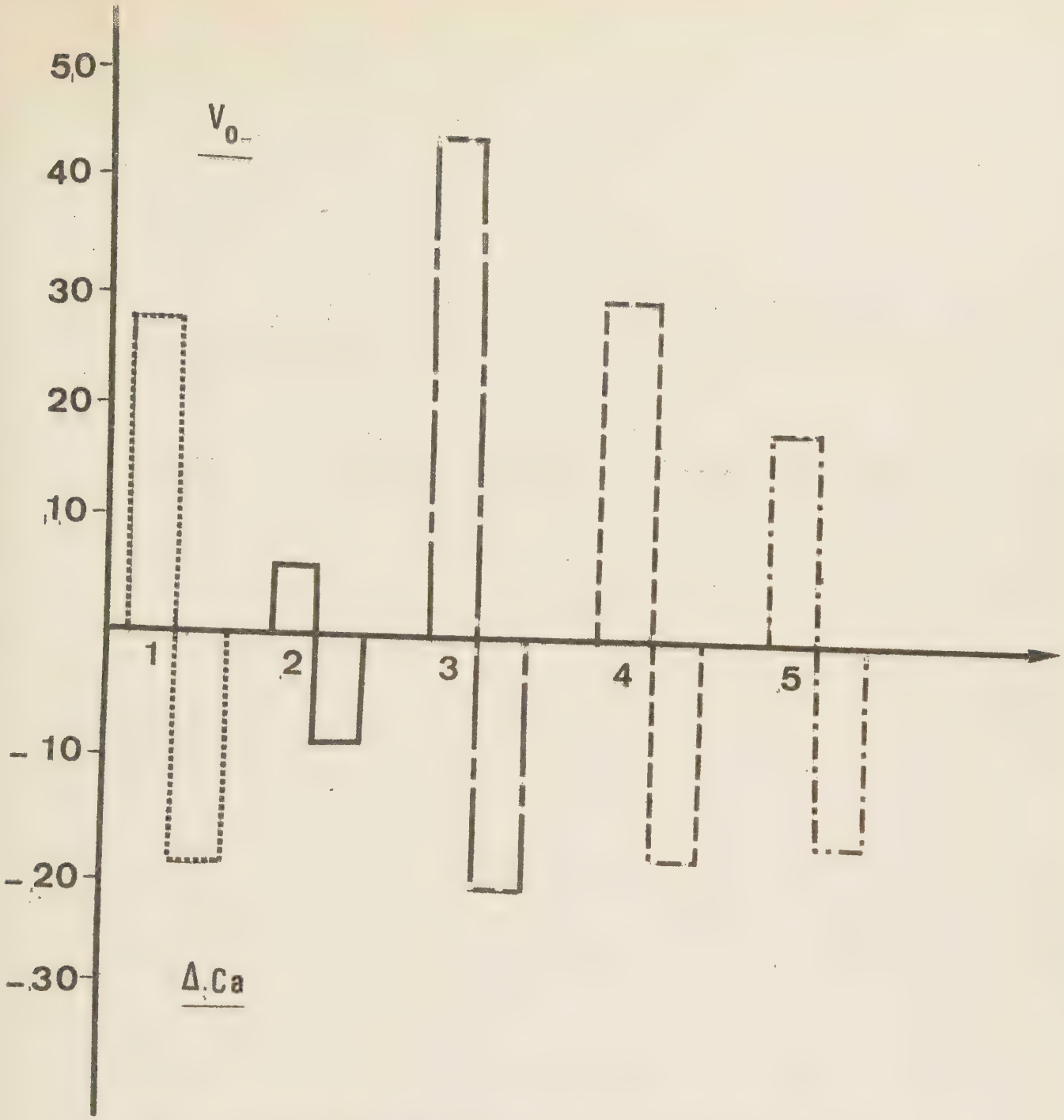


Schéma comparatif de la valeur du catabolisme osseux (V_{O-}) et de la diminution du calcium sérique due à l'action de la calcitonine exogène chez

1: le Rat témoin.

2: le Rat carencé en iode.

3: le Rat temoin recevant de la thyroxine.

4: le Rat carencé en iode supplémenté en thyroxine.

5: le Rat carencé en iode et en calcium.

tableau n°13

La thyroxine, facteur hormonal favorisant le catabolisme osseux, semble donc conditionner l'action de la calcitonine en rétablissant un certain niveau de ce catabolisme.

Enfin, la réponse à l'injection de calcitonine de l'animal carencé à la fois en iode et en calcium s'explique également par la valeur du catabolisme osseux dont l'augmentation par rapport à celui des animaux carencés en iode seul est probablement due à la reprise de la fonction parathyroïdienne.

B) - L'HYPOTHYROIDIE INDUITE PAR UN ANTITHYROIDIEN DE SYNTHESE

I - Protocole expérimental.

L'étude a porté sur des animaux ayant reçu quotidiennement pendant un mois une injection intramusculaire de 2, 5 mg/100 gr de poids d'une solution à 10 pour 1. 000 de propylthiouracile induisant un goître contrôlé histologiquement.

Les animaux sont répartie en 4 séries :

Série I : rats témoins.

Série II : rats traités au PTU.

Série III : rats témoins recevant durant les huit jours précédant l'expérimentation une injection quotidienne de 20 μg de thyroxine.

Série IV : rats traités au PTU et supplémentés en thyroxine dans les mêmes conditions que précédemment.

Chacune des séries comprenant deux lots :

- le lot A : recevant par voie intraveineuse 0,2 ml de tampon acétate par 100 gr. de poids.

- le lot B : recevant dans les mêmes conditions 0,2 ml par 100 gr de poids, d'une solution de calcitonine de même origine et de même activité que dans l'étude précédente, soit 200 mU MRC par 100 gr de poids pour chaque animal.

Les animaux des séries III et IV reçoivent après un mois de traitement au PTU, une injection quotidienne de 20 µg de thyroxine pendant huit jours.

Le sang est prélevé une heure après l'injection de calcitonine et la calcémie dosée.

2 - Résultats.

L'ensemble des résultats obtenus (cf. tableau n° 14) est semblable à ceux notés chez l'animal carencé en iode :

- la calcitonine exogène induit une hypocalcémie beaucoup moins nette chez le Rat traité au PTU que chez le Rat témoin.

- l'administration de thyroxine à l'animal hypothyroïdien tend à rétablir l'action hypocalcémiante de la calcitonine exogène.

3 - Discussions.

L'ensemble des résultats obtenus chez l'animal carencé en iode et chez l'animal traité au PTU montre une identité d'action de la calcitonine exogène chez les animaux hypothyroïdiens supplémentés en

TABLEAU N° 14

TABLEAU COMPARATIF DE L'ACTION DE LA CALCITONINE EXOGENE

Chez le Rat témoin (Série I),

Rat traité au PTU (Série II),

Rat témoin recevant de la thyroxine (Série III),

Rat traité au PTU supplémenté en thyroxine (Série IV),

Le lot A reçoit : 0,2 ml de tampon acétate (T) par 100 gr de poids.

Le lot B reçoit : 0,2 ml de calcitonine (CT) par 100 gr de poids.

La calcémie est exprimée en mg par litre.

TABLEAU N° 14

Série I Témoins		Série II PTU		Série III Témoins + T_4		Série IV PTU + T_4	
Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
Tampon	CT	Tampon	CT	Tampon	CT	Tampon	CT
96	86	102	96	98	78	104	88
100	84	106	102	98	80	100	96
96	82	104	94	96	78	100	86
98	82	100	90	98	82	102	90
100	88	106	102	100	82	104	88
98	88	96	94	104	76	100	70
106	86	102	86	100	80	96	80
97	86	98	90	102	86	100	82
102	80	99	92			98	84
100	82	102	100			96	84
99	85	97	90			98	80
99	78	99	90				80
102	80	99	94				76
	78	99	94				
	85	95					
99,4 $\pm$ -1,36	83,3 $\pm$ -0,85	100 $\pm$ -1,28	94,2 $\pm$ -2,14	99,5 $\pm$ -0,82	79,75 $\pm$ -0,63	99,6 $\pm$ -0,75	84,5 $\pm$ -1,76
Δ = -16,1		Δ = - 5,3		Δ = - 19,75		Δ = - 15,1	

TABLEAU N° 15

Séries / Animaux	Valeur de V_{o-}	Calcémie		
		Tampon	Calcitonine	Δ Ca
I Témoins.	28,3 ± 5,05	99,4 ± 1,36	83,3 ± 0,85	- 16,1
II Rats + PTU	14,1 ± 5,06	100 ± 1,28	94,2 ± 2,14	- 5,8
III Témoins + Thyroxine	46,75 ± 6,43	99,5 ± 2,43	79,75 ± 4,51	- 19,75
IV Rats + PTU + Thyroxine	17 ± 5,06	99,6 ± 0,75	84,5 ± 1,76	-15,1

Tableau comparatif du niveau du catabolisme osseux (V_{o-}) et du Δ de calcium sérique produit par l'administration de calcitonine exogène - cas de l'hypothyroïdie par traitement au PTU.

thyroxine.

Cependant, les bilans calciques mettent en évidence des valeurs différentes de V_{o-} dans des séries expérimentales correspondantes (cf. tableaux n° 12 - 15)

Il semble donc qu'il existe pour le catabolisme osseux un seuil au dessous duquel l'action hypocalcémiante de la calcitonine perd son intensité.

Dans nos conditions expérimentales, ce seuil semble être sensiblement égal, chez le Rat, à la moitié de la valeur normale.

Afin d'apporter une confirmation à ces conclusions, nous avons fait une étude parallèle chez le Rat thyroparathyroïdectomisé.

C) - CAS DES ANIMAUX THYROPARATHYROIDECTOMISES.

1 - Protocole expérimental.

L'étude a porté sur trois séries homogènes d'animaux :

Série I : rats témoins.

Série II : rats ayant subi l'ablation chirurgicale de l'appareil thyroparathyroïdien depuis un mois.

Série III : rats thyroparathyroïdectomisés dans les mêmes conditions, et supplémentés en thyroxine dès le jour de l'intervention chirurgicale, à raison d'une injection quotidienne de 5 µg de thyroxine par 100 gr. de poids.

Les animaux sont pesés tous les huit jours.

Chacune des séries comprend deux lots :

- le lot A : recevant une injection intraveineuse de tampon acétate à 1 % pH 4 et renfermant 0,1 gr de sérum albumine bovine : soit 0,2 ml de tampon par 100 gr. de poids d'animal.

- le lot B : recevant également par voie intraveineuse 0,2 ml par 100 gr. de poids d'animal d'une solution de calcitonine d'origine porcine d'activité 88 unités MRC par milligramme : soit 200 mU MRC par 100 gr. de poids.

2 - Résultats. (cf. tableau n° 16).

1 - La calcitonine exogène détermine, chez le Rat normal, une hypocalcémie significative (abaissement de 19,4 mg par litre).

2 - Le Rat thyroparathyroïdectomisé ne répond pas à l'administration de cette hormone.

3 - L'injection de thyroxine à ce même animal ne semble pas potentialiser d'une manière appréciable l'activité hypocalcémiante de la calcitonine.

3 - Discussions.

L'ensemble de ces résultats confirme que l'absence d'hormones thyroïdiennes iodées semble inhiber toute activité de la calcitonine.

Ceci est d'ailleurs en accord avec les travaux d'AUBERT et MILHAUD (11) montrant l'effondrement de l'ostéolyse chez ces animaux.

Cependant, dans nos expériences, l'administration de thyroxine corrige partiellement la calcémie qui demeure toutefois très basse par suite de l'absence de parathormone.

TABLEAU N° 16

TABLEAU COMPARATIF DE L'ACTION DE LA CALCITONINE EXOGEN

Chez le Rat témoin (Série I),
le Rat thyroparathyroïdectomisé (Série II)
le Rat thyroparathyroïdectomisé supplémenté en thyroxine (Série III),

Le lot A reçoit : 0,2 ml de tampon acétate par 100 gr de poids
Le lot B reçoit : 0,2 ml de calcitonine par 100 gr de poids.

La calcémie est exprimée en mg par litre.

TABLEAU N° 16

Série I Témoins.		Série II Thyroparathyroïdectomisés		Série III Thyroparathyroïdectomisés + Thyroxine	
Lot A	Lot B	Lot A	Lot B	Lot A	Lot B
Tampon	CT	Tampon	CT	Tampon	CT
96	78	58	54	96	88
98	88	54	50	64	62
100	74	48	46	66	64
100	84	66	60	70	60
98	82	56	58	70	70
104	76		58	80	78
104	78		76	76	68
					74
99,4 $\pm$ 0,95	80 $\pm$ 1,85	56,4 $\pm$ 3,2	57,6 $\pm$ 3,6	75,4 $\pm$ 2,76	70,5 $\pm$ 3,36
Δ = -19,4		Δ = 0		Δ = -5,4	

L'effet minime de la calcitonine exogène chez les animaux supplémentés en thyroxine peut s'expliquer par l'absence de parathormone.

En effet, en 1966, GUDMUNDSSON & Coll. (9) ont montré chez le Rat, que la calcitonine ne pouvait abaisser le calcium plasmatique en dessous de la valeur de l'hypocalcémie déjà obtenue par la parathyroïdectomie.

D) - CONCLUSIONS.

De l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que la thyroxine semble "potentialiser" l'action de la calcitonine en lui assurant le niveau de catabolisme osseux nécessaire à son activité.

Ces conclusions sont en accord avec celles de MILHAUD & Coll. (160), qui, injectant simultanément au Rat de la calcitonine et de la thyroxine, montrent que celle-ci supprime l'hypophosphatémie produite par la calcitonine et "potentialise" l'hypocalcémie induite par cette même hormone en augmentant le catabolisme osseux.

Cliniquement, JOB & Coll. (113) montrent que la calcitonine induit une hypocalcémie plus importante chez l'Enfant que chez l'Adulte dont le catabolisme osseux est moins actif.

Enfin, GITTES & Coll. (84) (85) (86) montrent que la thyroxine accélère le retour à la normale d'une hypercalcémie provoquée par l'injection d'une surcharge calcique chez le Rat.

Récemment, JOWSEY & Coll. (116), étudiant l'action de sels de calcium, de l'EDTA, de la parathormone et de la calcitonine chez le Chien, soit thyroparathyroïdectomisé, soit surchargé en thyroxine, ont montré le rôle important de la thyroxine dans l'homéostasie calcique. Cette hormone stimulerait directement l'activité métabolique des cellules osseuses, ceci en liaison avec son action dans la régulation générale des métabolismes.

En conclusion, malgré l'indépendance histologique et embryologique des deux systèmes endocriniens de la thyroïde, il se pose toutefois le problème de savoir si la thyroxine exerce son influence sur l'activité hypocalcémiante de la calcitonine au niveau même du site d'élaboration de ces hormones ou bien seulement sur le catabolisme osseux comme nous venons de le montrer.

Ceci conduit donc à étudier le problème même de la sécrétion de calcitonine au cours de l'hypothyroïdie.

C'est ce que nous avons envisagé dans la troisième partie de ce travail consacrée aux variations cytophysiologiques éventuelles du système élaborateur de la calcitonine et leur rapport avec les phénomènes périphériques déjà étudiés.

ETUDE DES VARIATIONS STRUCTURALES ET FONCTIONNELLES DES CELLULES C

AU COURS DE L'HYPOTHYROIDIE EXPERIMENTALE CHEZ LE RAT :

LEUR RAPPORT AVEC L'ACTIVITE PERIPHERIQUE DE LA CALCITONINE.

L'étude du métabolisme calcique chez le Rat hypothyroïdien montre que l'influence de la thyroxine sur l'activité hypocalcémiante de la calcitonine semble se manifester au niveau osseux.

Le fait que, chez ce même animal, l'administration de thyroxine tend d'une part à rétablir la valeur des différents paramètres de son métabolisme calcique notamment V_{o} et d'autre part à potentialiser l'activité de la calcitonine exogène, nous a amené à poser le problème de la sécrétion de cette hormone au cours de l'hypothyroïdie expérimentale chez le Rat.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises.

1 - Un défaut de production de calcitonine contribuerait à l'état de surcharge calcique observé.

Ceci semble, à priori, peu probable pour deux raisons :

a) la calcitonine augmentant l'accrétion calcique en réduisant le catabolisme osseux, son absence ne peut entraîner une densification du squelette [ALONSON & Coll. (3), JOB & Coll. (113)].

b) l'iode ne faisant pas partie de la molécule de calcitonine, cet élément ne peut avoir quelque importance dans le processus de synthèse de l'hormone [MORII et TALMAGE (163)].

2 - Une hypersécrétion de calcitonine répondrait à l'hypercalcémie ce qui expliquerait partiellement l'effondrement de l'ostéolyse.

Bien que le métabolisme osseux puisse présenter une certaine indépendance à l'égard de la calcémie (11), l'action rapide de la calcitonine n'explique pas l'hypercalcémie observée dans certains cas d'hypothyroïdie.

3 - La calcitonine élaborée normalement ne pourrait agir au niveau périphérique en l'absence des hormones thyroïdiennes iodées.

Seule l'étude des variations cytophysiologiques au niveau du site d'élaboration de ces hormones et du lien éventuel existant entre l'état fonctionnel des cellules productrices et l'activité hormonale au niveau périphérique pouvait apporter quelque réponse à ce problème.

C'est ce que nous avons étudié au cours de la troisième partie de ce travail.

L'hypothyroïdie induite expérimentalement chez le Rat, soit par un régime carencé en iode, soit par l'administration prolongée de propylthiouracile, détermine la formation d'un goître.

Bien que durant ces dernières années, le nombre de produits goitrogènes connus se soit accru, le facteur inducteur demeure la carence chronique en iode.

Cependant, le mécanisme même par lequel cette carence agit sur la structure des cellules thyroïdiennes et la voie selon laquelle les goîtres et les tumeurs sont induites expérimentalement, ne sont pas totalement élucidés.

Il est cependant bien établi que la carence chronique en iode produit, chez le Rat ou la Souris, une hyperplasie parenchymateuse (goître parenchymateux) qui se développe ensuite en goître colloïdal et, après un temps prolongé de carence, en véritable tumeur. [BIELSCHOWSKY (26), AXELRAD et LEBLOND (12), LUPULESCU et PETROVICI (139) (140) VAN MIDDLESWORTH (152)] .

Au cours de notre travail, l'étude histologique de la thyroïde des rats soumis à un régime carencé en iode, et, celle des rats traités au PTU a mis en évidence une différence de topographie structurale.

I) - HISTOLOGIE DU FOLLICULE THYROIDIEN CHEZ LE RAT TRAITE AU PTU.

La thyroïde double sensiblement de volume et présente une hyperhémie assez prononcée.

L'image histologique est, selon nos conditions expérimentales, celle d'un goître épithélial.

- La microscopie optique met en évidence une prédominance de microfollicules limités par un épithélium formé de cellules hautes et cylindriques entourant une très petite lumière renfermant une colloïde très significativement réduite.

Les noyaux hyperchromatiques sont en position basale et on note une hyperhémie des capillaires sinusoïdaux.

L'administration quotidienne de PTU au Rat a donc induit chez ce dernier un goître hyperplasique, microfolliculaire caractérisé par l'absence de colloïde et la présence d'une hyperhémie assez marquée.

- L'ultra-structure se caractérise par :

- La présence de nombreuses microvillosités hypertrophiques situées au pôle apical de la cellule et donc certaines pénètrent profondément dans la lumière folliculaire.

- Une zone cytoplasmique sub-apicale qui renferme des organites présentant de petites vésicules semblant fusionner ou adhérer à la marge apicale ou bien est occupée dans sa presque totalité par un noyau hyperplasique et hypertrophique.

- Un réticulum cytoplasmique présentant une expansion caractéristique.

- Un appareil de Golgi hypertrophique et au voisinage duquel on note la présence de granulations denses.

- Une hyperhémie et une hyperplasie des capillaires.

- La rareté des gouttes de colloïde.

II) - HISTOLOGIE DU FOLLICULE THYROIDIEN CHEZ LE RAT CARENCE EN IODE .

Contrairement à ce que nous observons chez le Rat traité au PTU, la thyroïde du Rat carencé en iode ne présente pas d'augmentation de volume ni d'hyperhémie.

L'étude histologique de la thyroïde du Rat carencé en iode, selon nos conditions expérimentales, met en évidence la formation de macrofollicules aux cellules aplaties tendant à avoir l'aspect du goître colloïdal.

- La microscopie optique montre une prédominance de macrofollicules de dimensions importantes et que limite un épithélium formé de cellules aplaties et cubiques d'où partent des invaginations pénétrant dans la lumière du follicule que remplit une colloïde homogène et sans aucune vacuole de résorption.

- L'ultra-structure se caractérise par :

- La présence de plusieurs microvillosités pénétrant dans la lumière du follicule.

- Un cytoplasme sub-apical renfermant de nombreux organites sphériques ainsi que des granulations de taille variée et fusionnant entre elles.

- Un réticulum cytoplasmique, composé de petites vésicules limitées par une membrane aplatie et bordée de nombreux ribosomes.

- Un appareil de Golgi complexe moins hypertrophié, et formé de lamelles localisées au voisinage du noyau.

- La présence, dans la zone basale, de quelques grains de sécrétion traduisant une activité réduite.

En conclusion, si l'on se réfère aux travaux pré-cités (26) (12), (139), (152), l'étude histologique de la thyroïde du Rat traité au PTU et celle du Rat carencé en iode suggèrent que, dans les conditions dans lesquelles nous avons expérimenté, le niveau d'hypothyroïdie induite n'est sensiblement pas le même.

Ceci serait donc en faveur de l'hypothèse émise lors de l'explication de la divergence des résultats du métabolisme calcique chez ces animaux.

Cependant, malgré l'indépendance des deux systèmes endocriniens de la thyroïde, il se posait le problème de savoir ce que devenaient les cellules C au cours de l'hypothyroïdie expérimentale perturbant profondément l'histologie thyroïdienne.

III) LES CELLULES C - ETUDE AU COURS DE L'HYPOTHYROIDIE.

L'examen histologique des cellules C, en microscopie optique présente quelques difficultés.

1 - A cause de leur faible affinité pour les colorations classiques de la thyroïde comme l'Hémalun-éosine, l'Azan.

2 - Par le nombre restreint et peu significatif de critères permettant de les différencier des cellules de l'épithélium du follicule thyroïdien : dimensions de la cellule, et du noyau, intensité de coloration au niveau du cytoplasme.

3 - Leur faible pourcentage par rapport aux cellules de l'épithélium folliculaire. (1 % chez le Rat).

La coloration au bleu de Toluidine après hydrolyse acide (225) (cf. techniques utilisées), permet toutefois une mise en évidence de ces cellules par suite de la basophilie métrachromatique induite par l'hydrolyse acide au niveau des granulations cytoplasmiques.

Cependant, la très faible affinité des cellules de l'épithélium folliculaire pour le bleu de Toluidine apporte quelque limite à cette méthode.

A) HISTOLOGIE DES CELLULES C CHEZ LE RAT TEMOIN.

Afin d'apprécier la répartition de ces cellules dans la glande thyroïde, nous avons réalisé des coupes sériées de chacun des deux lobes thyroïdiens, soumettant l'un à la coloration classique à l'Hémalun-éosine, l'autre au bleu de Toluidine.

La première technique nous a permis de comparer la morphologie des cellules C avec celle des cellules de l'épithélium folliculaire, la seconde nous permettant de les repérer aisément dans leur ensemble. (Cf. photo n° 1).

Les cellules C, inégalement réparties dans la glande thyroïde semblent se situer essentiellement dans la région centrale de chaque lobe thyroïdien. Nous avons cependant noté une densité importante de ces cellules au voisinage des glandes parathyroïdes dans lesquelles il est d'ailleur possible d'en repérer, mais à un très faible pourcentage.

Les cellules C apparaissent nettement plus volumineuses que les cellules de l'épithélium folliculaire et il en est de même des noyaux. Celui-ci généralement en position basale, est clair et pauvre en chromatin

Il est très difficile de détecter des mitoses.

Le cytoplasme homogène est faiblement coloré par l'éosine, et ne renferme pas de gouttes de colloïde.

Ces cellules peuvent être isolées ou groupées par deux ou trois.

Contrairement à leur appellation classique de "cellules parafolliculaires", il nous a été possible d'en détecter au milieu même des cellules de l'épithélium folliculaire. La microscopie optique ne nous a toutefois pas permis d'affirmer si ces cellules étaient adjacentes à la colloïde.

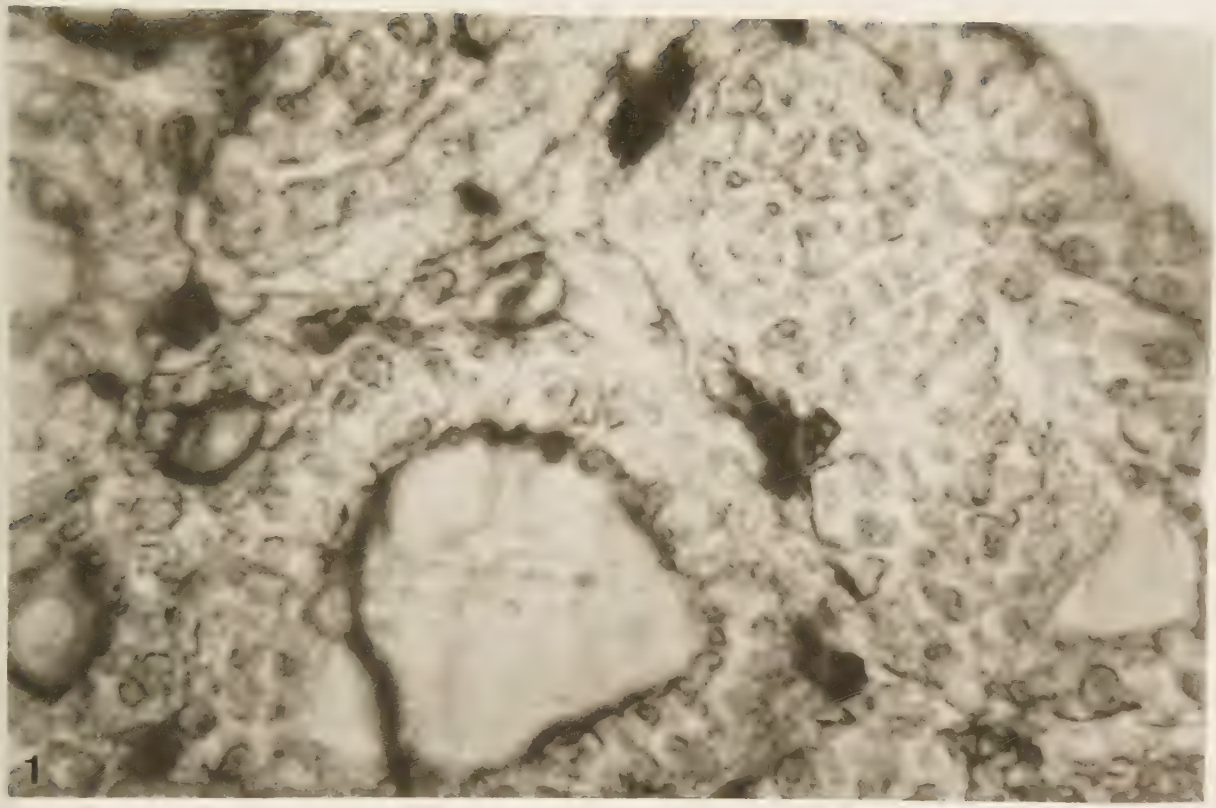
- La microscopie électronique est venue confirmer cette observation. A un pourcentage très faible, il est cependant possible de trouver, dans la thyroïde de Rat, des cellules C en bordure de la colloïde (cf. photo n° 7). Ceci est d'ailleurs en accord avec les travaux de YOUNG

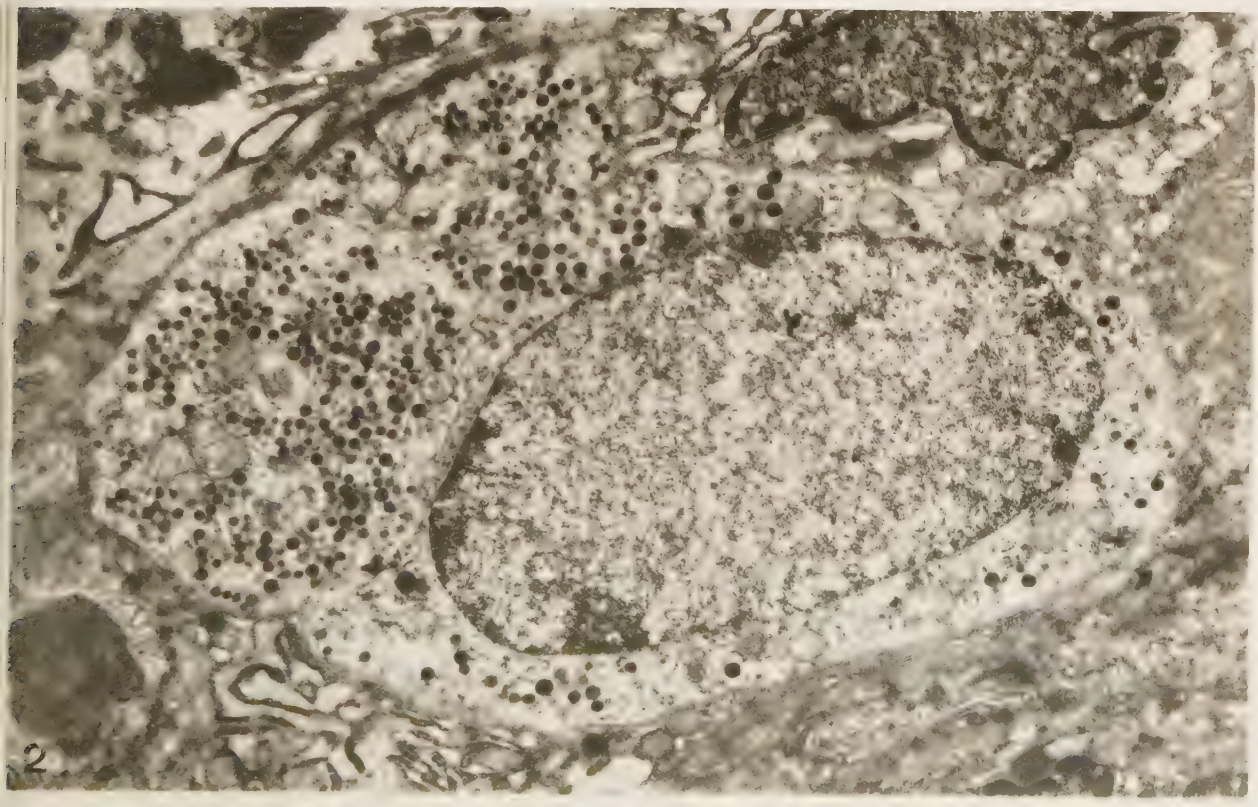
Photographie n° 1 :

Coloration sélective des cellules C de la thyroïde de Rat. Méthode de SOLCIA et SAMPIETRO. (bleu de Toluidine après hydrolyse acide). x 64.

Photographie n° 2 :

Micrographie de cellules C de thyroïde de Rat x 11.200.


1


2

et LEBLOND (255).

Cette technique nous a permis également de mettre en évidence les granulations cytoplasmiques généralement arrondies et plus ou moins denses. (cf. photo n° 2).

Ces granulations ne sont pas toujours réparties uniformément dans le cytoplasme et semblent être en rapport direct avec l'appareil de Golgi plus ou moins bien développé. Cette observation est d'ailleurs en faveur de l'hypothèse émise par AZZALI (13) (14) qui suppose que ces grain de sécrétion, après avoir achevé leur maturation dans la zone de Golgi, migrent vers la périphérie du cytoplasme et atteignent la surface interne de la membrane cytoplasmique.

Il est également possible de détecter, au niveau de l'appareil de Golgi, des vacuoles de taille variable, tendant à se confondre avec les granulations ce qui permet de supposer que l'appareil de Golgi prend une part active dans la formation des grains de sécrétion. Ceci est d'ailleurs un phénomène décrit au niveau d'autres glandes endocrines. [KUROSUMI (132)] .

Les mitochondries apparaissent soit sous forme de batonnets, soit sous forme arrondie.

FOSTER & Coll. (69) ont d'ailleurs évalué quantitativement cet équipement mitochondrial et ont montré qu'il était égal à celui de certaines cellules endocrines notamment de l'adéno-hypophyse.

Photographie n° 3 :

Thyroïde de Rat témoin. Coloration sélective des cellules C par la méthode de SOLCIA et SAMFIETRO x 120.

Photographie n° 4 :

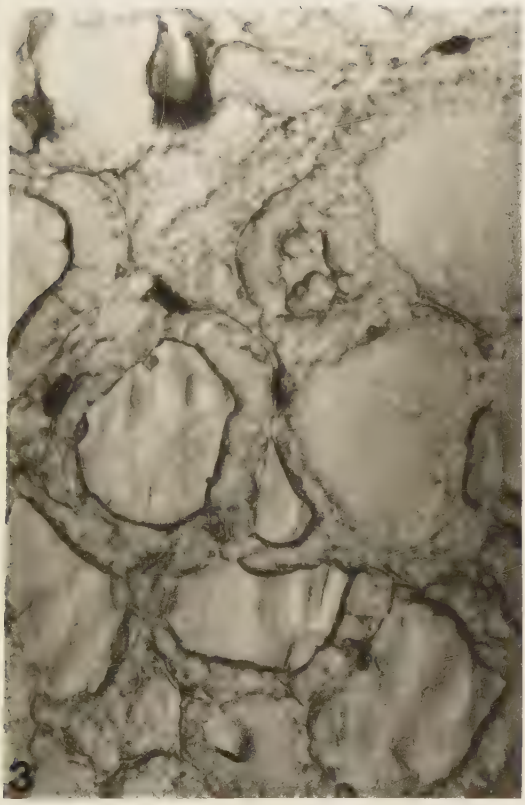
Prolifération des cellules C au cours de la carence en iode chez le Rat. x 75

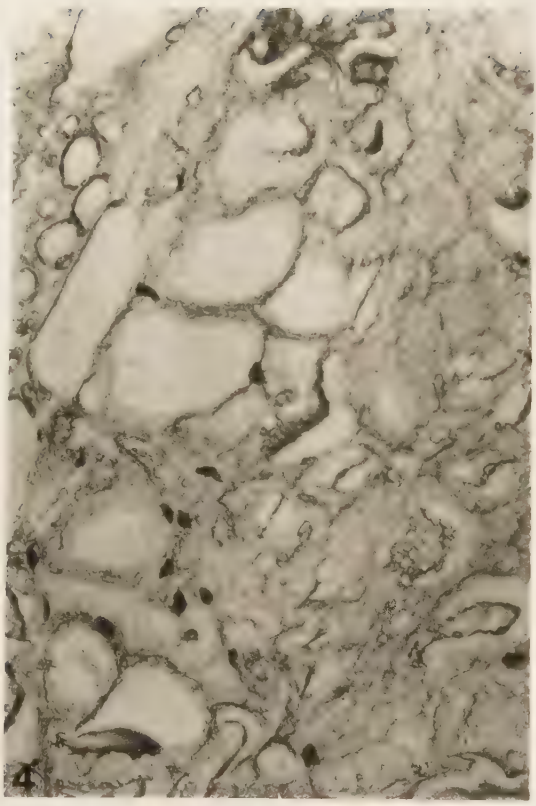
Photographie n° 5 :

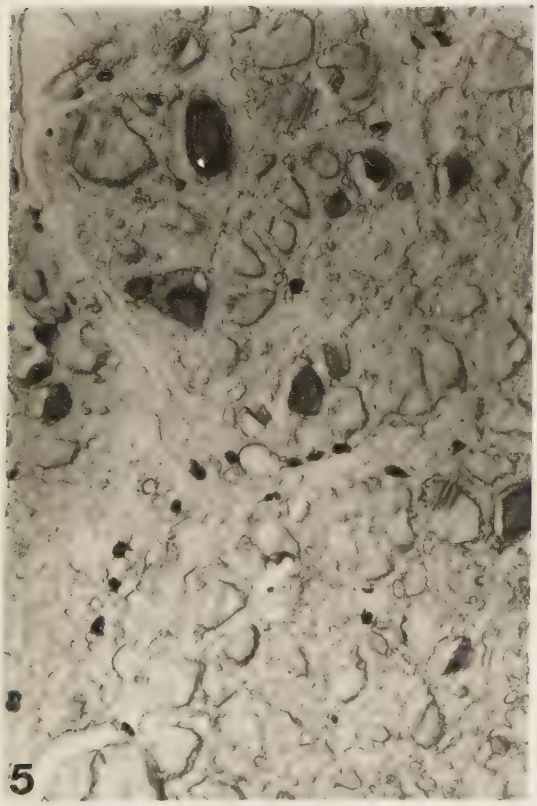
Prolifération des cellules C au cours de l'hypothyroïdie induite par l'administration quotidienne de propylthiouracile. x 75

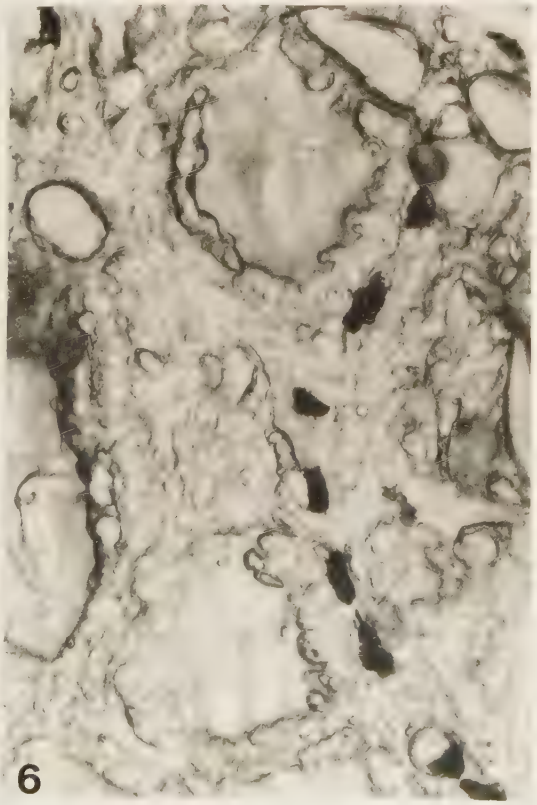
Photographie n° 6 :

Même prolifération chez le Rat traité au PTU. x120


3


4


5


6

B) LES CELLULES C CHEZ LE RAT CARENCE EN IODE, OU TRAITE AU PTU.

La coloration au bleu de Toluidine de coupes de thyroïde de rats carencés en iode ou traités au PTU met en évidence, à côté des signes caractéristiques de l'hypofonctionnement de l'épithélium folliculaire, l'absence de modifications au niveau des cellules C.

Nous avons d'ailleurs confirmé ces résultats par une étude en microscopie électronique.

Cependant, cette même coloration nous a permis de mettre en évidence une prolifération des cellules C chez l'animal carencé en iode, ceci étant beaucoup moins appréciable chez l'animal traité au PTU. (Cf. photo n° 3, 4, 5, 6).

Afin d'avoir une idée de l'ordre de grandeur de cette prolifération, nous avons essayé d'évaluer quantitativement le nombre de ces cellules par rapport à un témoin.

Par suite de la coloration utilisée (bleu de Toluidine) et de la non-affinité des cellules de l'épithélium folliculaire pour ce colorant, nous n'avons pu établir le pourcentage des cellules C par rapport aux autres cellules thyroïdiennes.

Aussi avons-nous fait la numération des cellules C dans des plages thyroïdiennes délimitées avec précision et situées au même niveau (coupes sériées et de même épaisseur).

L'ensemble des résultats rapportés dans le tableau n° 17 montre que le nombre des cellules C augmente de 2 à 3 fois leur valeur chez le Rat carencé en iode.

TABLEAU N° 17

	Rat témoin	Rat carencé en iode	Rat traité au PTU	Rat hypophysectomisé
Nombre de cellules C par section de follicules	0,71 ± 0,03	1,60 ± 0,12	1,30 ± 0,59	2,31 ± 0,72

Chaque valeur représente le nombre de cellules C par section de follicules.

Les cellules C ont été dénombrées sur 10 coupes sériées de 5 μ d'épaisseur effectuées dans la région médiane de la thyroïde de 10 animaux pour chacune des séries, et, ramenées au nombre de section de follicules dans une même aire thyroïdienne.

Par contre, chez l'animal traité au PTU, les résultats sont moins significatifs.

Emettant l'hypothèse que cette divergence de résultats pouvait s'expliquer par la valeur même de l'hypothyroïdie induite expérimentalement, nous avons fait une étude parallèle chez le Rat hypophysectomisé.

C) LES CELLULES C CHEZ LE RAT HYPOPHYSECTOMISE

L'examen histologique d'une coupe de thyroïde de Rat hypophysectomisé montre, à côté de tous les signes caractéristiques d'hypofonctionnement des cellules de l'épithélium folliculaire, l'absence d'altération au niveau des cellules C.

La coloration au bleu de Toluidine permet de les identifier aisément parmi de larges follicules distendus par de la colloïde homogène que délimite un épithélium très aplati.

La microscopie électronique confirme ces résultats. (cf. photo n° 7, 8).

Observant le même phénomène de prolifération que précédemment (cf. photo n° 9, 10), nous avons étudié l'histologie thyroïdienne du Rat hypophysectomisé à des temps post-opératoires différents.

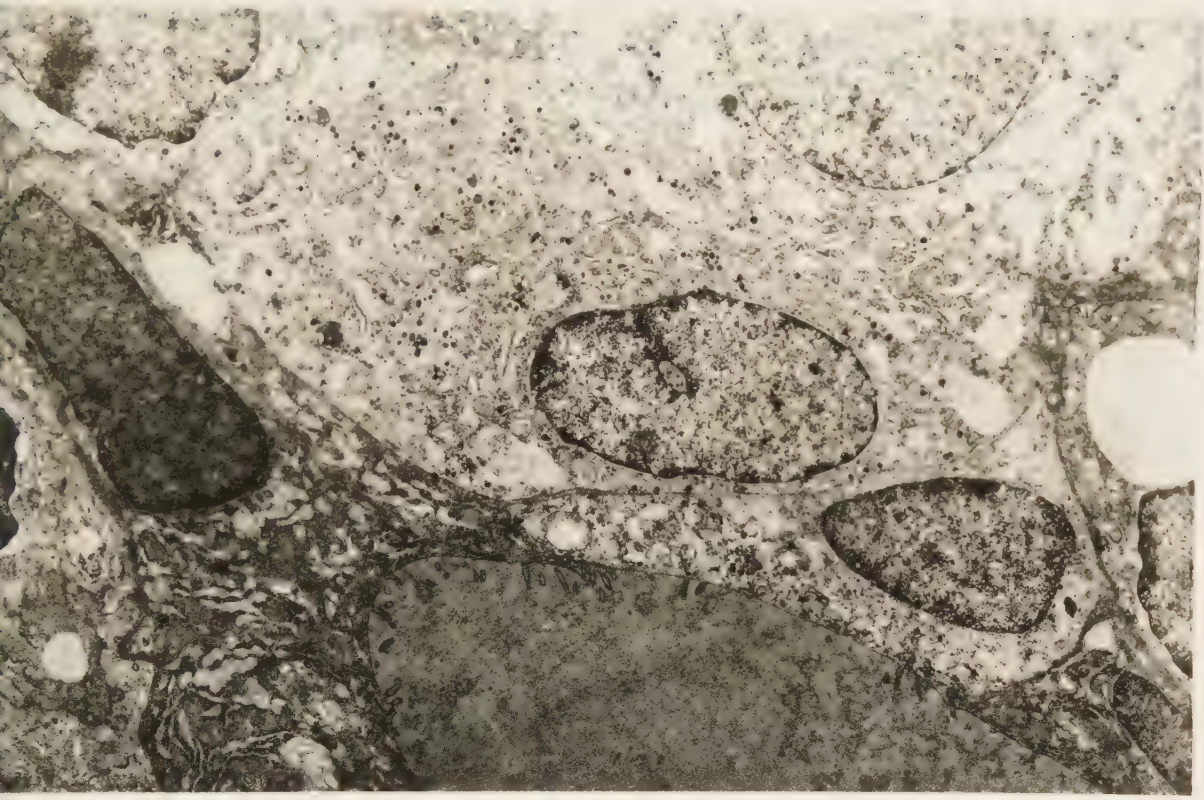
Nous avons ainsi observé que cette prolifération supérieure à celle notée chez l'animal carencé en iode (cf. tableau n° 17), se produisait essentiellement durant les deux semaines qui suivaient l'ablation chirurgicale. Nous avons gardé des animaux durant deux mois après l'hypophysectomie sans toutefois noter par la suite des variations significatives.

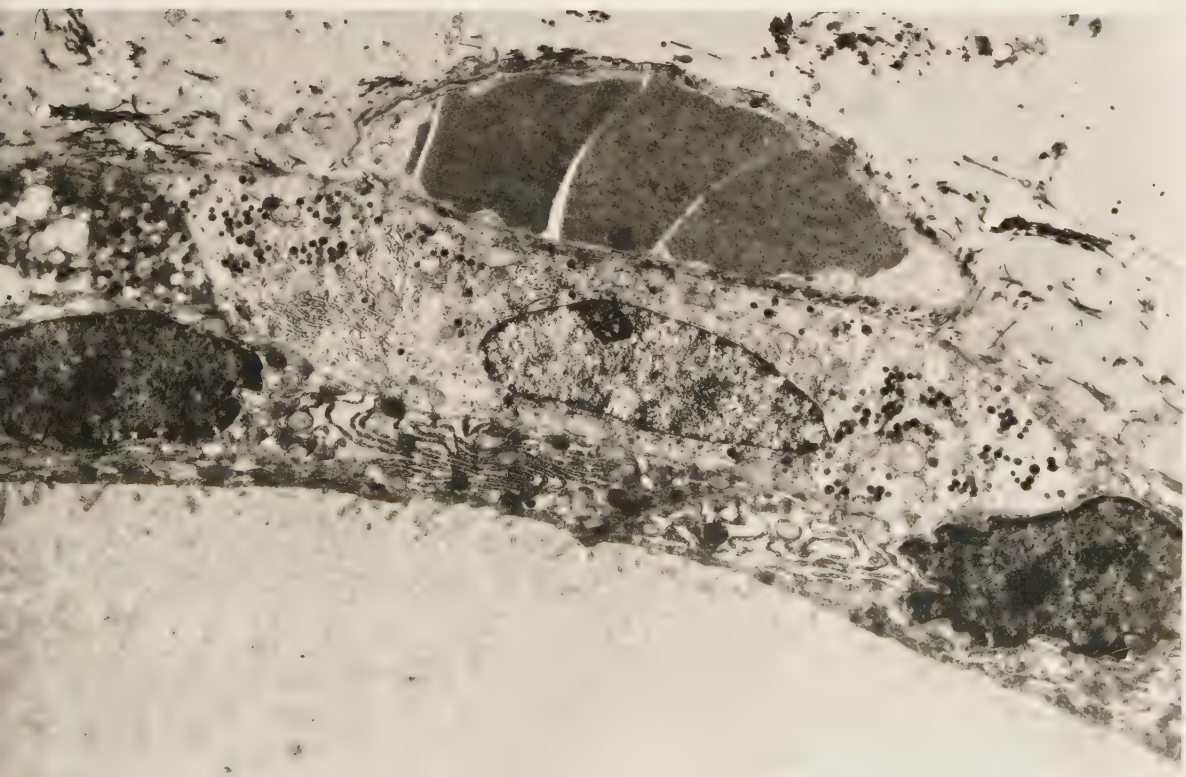
Photographie n° 7 :

Micrographie de cellules C chez un Rat témoin x 6.200

Photographie n° 8 :

Micrographie de cellules C chez un Rat hypophysectomisé depuis 21 jours. x 6.200



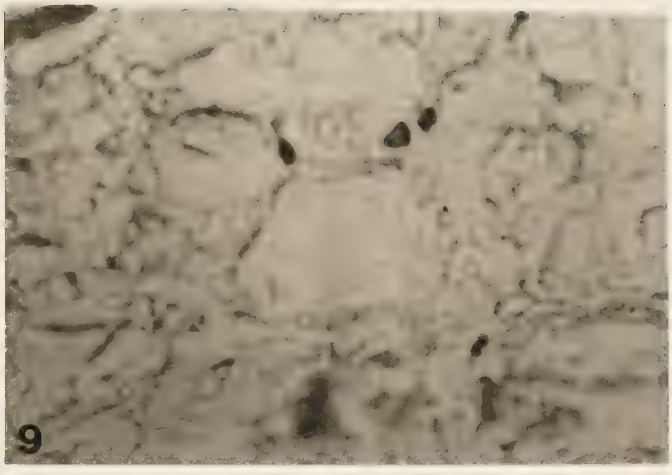


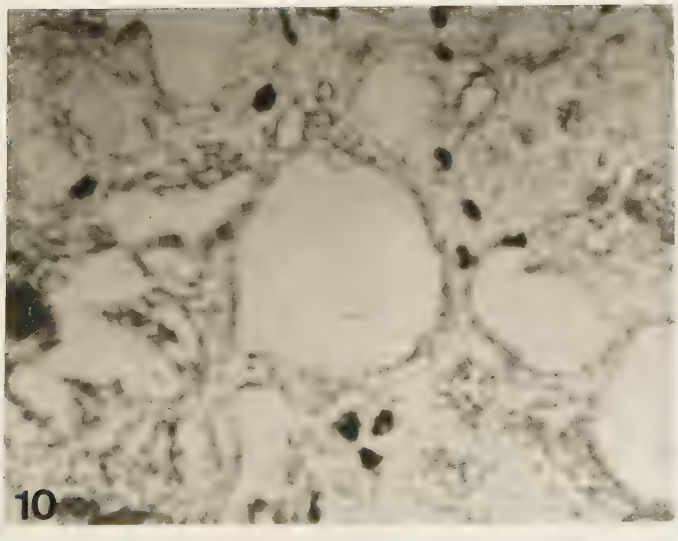
Photographie n° 9 :

Thyroïde de Rat témoin. (Coloration au bleu de Toluidine). x 75

Photographie n° 10 :

Thyroïde de Rat hypophysectomisé depuis 21 jours. Prolifération des cellules C. (Coloration au bleu de Toluidine). x 75.


9


10

Nous avons toutefois déterminé les différents paramètres du bilan calcique de l'animal hypophysectomisé, centrant l'intérêt de ces résultats sur la valeur de V_{o-} qui apparaît diminuée d'une manière significative.

Discussions.

De l'ensemble de ces résultats, il se dégage quatre points essentiels :

1 - La sécrétion de calcitonine est indépendante de tout contrôle hypophysaire.

2 - Le blocage de la biosynthèse des thyronines ne semble pas s'accompagner d'une inhibition de sécrétion de la calcitonine comme en témoigne l'ultra-structure.

3 - La thyroxine qui potentialise l'activité hypocalcémiante de la calcitonine ne semble pas agir au niveau même de la glande thyroïde.

4 - La prolifération cellulaire observée suggère une hypersécrétion de la calcitonine qui serait toutefois inefficace au niveau de l'os, le catabolisme osseux étant trop faible.

Cette conception est toutefois en désaccord avec celle de MORII et TALMAGE (163) qui effectuant des hypercalcémies provoquées chez le Rat carencé en iode ou traité au méthylthiouracile, notent un retour ralenti de la calcémie à la normale. Les auteurs interprètent ces résultats comme une conséquence de l'absence de production de calcitonine

chez l'animal hypothyroïdien.

IBBERTSON & Coll. (106), SMITH & Coll. (233) réalisant les mêmes expériences chez l'Homme hypothyroïdien parviennent aux mêmes conclusions.

DUCAN et CARE (61), perfusant par du sang riche en calcium la thyroïde d'un Porc rendu hypothyroïdien par administration de méthyl-thiouracile, obtiennent, chez cet animal, une hypocalcémie inférieure à celle observée chez le témoin perfusé dans les mêmes conditions. Ils expliquent ces résultats par un trouble de la sécrétion de calcitonine secondaire à l'hyperplasie thyroïdienne (38) (39).

Par contre, YASUMURA & Coll. (253) montrent, par des essais biologiques, qu'aucune modification du taux de calcitonine ne survient au cours de la carence en iode.

De même, JOB & Coll. (113) ne pensent pas qu'il y ait un manque de sécrétion de calcitonine chez l'enfant hypothyroïdien, l'administration de T_3 amenant une correction de la courbe d'hypocalcémie.

Une certaine critique peut être apportée à l'ensemble de ces travaux qui n'envisagent pas ce qui se passe d'une part au niveau du site d'élaboration, d'autre part au niveau osseux.

Cependant, plusieurs auteurs ont observé une prolifération des cellules dans certaines conditions expérimentales, sans toutefois être amenés à faire le lien avec l'effet hormonal périphérique

Ainsi MATSUZAWA (150) montre que l'hypophysectomie, détermine, chez le Rat, une prolifération des cellules C sans aucune modification morphologique de ces cellules ni aucune altération de leurs grains de sécrétion.

Il en est de même pour THOMPSON & Coll. (241), SARKAR & Coll. (213), YOUNG & Coll. (255).

Par contre SAITO et SHIBATA (210) ne notent pas de prolifération des cellules parafolliculaires consécutive à l'hypophysectomie. Enfin YOUNG & Coll. (255) parlent d'une prolifération des cellules parafolliculaires après un traitement chronique au thiouracile.

Cependant, le rapport existant entre la valeur de V_{O-} et l'intensité de la prolifération des cellules C dans chacunes de nos séries expérimentales suggère une impossibilité de la part de la calcitonine d'agir au niveau périphérique où l'absence de thyroxine détermine un niveau d'ostéolyse inférieur à celui exigé par le mécanisme d'action du facteur hypocalcémiant.

L'influence de la thyroxine sur le pouvoir hypocalcémiant de la calcitonine semble donc se manifester non au niveau du site d'élaboration de ces hormones, mais au niveau osseux.

C'est ce que nous avons voulu confirmer par des études "in vitro" faisant l'objet de la quatrième partie de notre travail.

ETUDE "IN VITRO" DE L'INFLUENCE DE LA THYROXINE SUR L'ACTIVITE HYPOCALCEMIANTE DE LA CALCITONINE

Dès 1965, FRIEDMAN & Coll. (76) mirent en évidence, "in vitro", l'action inhibitrice de la calcitonine sur le tissu osseux, en étudiant l'action d'extraits plus ou moins purifiés de cette hormone sur des radius embryonnaires de Rat.

Ils montrèrent ainsi, histologiquement, que la calcitonine diminue la prolifération des ostéoclastes et des fibroblastes ainsi que la résorption de la matrice ; au contraire, la parathormone stimule ces phénomènes et sans elle la calcitonine ne peut agir.

Ces résultats furent confirmés, en 1966, par ALIAPOULIOS & Coll. (1) qui, par des techniques identiques, montrèrent également que la résorption osseuse est proportionnelle à la quantité de calcitonine introduite dans le milieu

Par la suite, en 1966 - 1967, GAILLARD (81) (82), reprenant les méthodes histologiques qu'il avait appliquées à l'étude de l'action de la parathormone "in vitro", trouve que la calcitonine augmente le nombre des ostéoblastes ce qui suggère un certain déséquilibre de la balance ostéolyse-ostéogénèse en faveur de cette dernière.

GAILLARD confirme ensuite ces résultats (83) par des cultures mixtes d'os et de thyroïde embryonnaires de Poulet, montrant de plus qu'une thyroïde d'embryon de 8 jours est capable de libérer, dans le milieu de culture, une substance "calcitonine like".

De nombreuses autres études histologiques furent ensuite réalisées "in vitro", prouvant l'inhibition de la résorption osseuse [RAISZ & Coll. (190) (191) (192), REYNOLDS & Coll. (197) (198), NISBET & Coll. (168)], ou y apportant certaines restrictions [GOLDHABER & Coll. (88) (89)] .

(Ce problème a d'ailleurs été évoqué dans la partie bibliographique de ce travail).

L'inhibition de la résorption osseuse par la calcitonine étant généralement évaluée comparativement à l'action de la parathormone, plusieurs auteurs (82) (76) montrèrent certaines divergences de résultats selon les concentrations respectives de calcitonine et de parathormone introduites dans le milieu.

Ayant déterminé, au préalable, que la parathormone agissait selon sa concentration au niveau de trois compartiments pris séparément ou non : l'os, le cartilage et le tissu conjonctif, GAILLARD (81) fit une étude détaillée de la corrélation d'action de ces deux hormones en fonction des doses utilisées.

Il en conclut que la calcitonine agit comme antagoniste de la parathormone, non seulement au niveau des ostéoblastes mais en inhibant également d'autres phénomènes sous la dépendance de la parathormone, et, survenant habituellement dans l'os, le cartilage et le tissu conjonctif.

De même, NISBET & Coll. (168) établirent le nombre d'unités MRC de calcitonine nécessaires pour inhiber l'effet déterminé par une dose donnée de parathormone.

Des études cinétiques "in vitro" (78) (190) (197) permirent ensuite d'évaluer quantitativement ces phénomènes en pourcentage de calcium 45 libéré, dans le milieu, par l'os préalablement marqué au niveau de la Ratte gestante, 48 heures avant le prélèvement des fœtus.

Ainsi, en 1968, FRIEDMAN & Coll. (77), en se basant sur l'amplitude de la réponse et sur les mesures des activités spécifiques du milieu et de l'os, montrent que l'inhibition de la résorption osseuse par la

calcitonine est indépendante de la parathormone ; elle peut se manifester en l'absence de celle-ci dont de fortes doses n'augmentent pas son activité.

Ces mêmes études cinétiques permirent de mettre en évidence la rapidité d'action de la calcitonine qui se manifeste dans les 25 minutes qui suivent l'addition de l'hormone au milieu de culture. [REYNOLDS & Coll. (199)].

Parallèlement à ces études histologiques et cinétiques, quelques auteurs se sont intéressés à certains aspects biochimiques de l'action de la calcitonine "in vitro".

Ainsi, RAISZ & Coll. (192) ont montré que la calcitonine inhibait l'incorporation de l'uridine tritiée dans l'ARN, phénomène que stimule la parathormone.

Les auteurs en concluent que la calcitonine semble agir directement sur les ostéocytes et les ostéoclastes, mais à un niveau différent de celui auquel agit la parathormone.

De même, REYNOLDS & Coll. (198) (199), étudiant la synthèse et la libération d'enzymes lysosomiques et leur relation avec le Turn-over des composants de la matrice osseuse, montrent que la calcitonine n'inhibe pas la libération accrue de protéase lysosomique due à l'action de la vitamine A.

Ils conclurent que la calcitonine doit inhiber la destruction du collagène non immature, mais sans affecter les autres composants de la matrice qui doivent être dégradés par les enzymes lysosomiques.

Enfin, en 1969, FLAMAGAN & Coll. (68) montrent par l'incorporation de proline marquée dans le milieu de culture, que la calcitonine ne modifie pas la synthèse du collagène.

A la suite des résultats de l'étude "in vivo" mettant en évidence l'influence, au niveau du catabolisme osseux, de la thyroxine sur l'activité de la calcitonine, nous avons étudié ces phénomènes "in vitro".

Dès 1955-1956, FELL et MELLAMBY (67) montraient que l'addition de thyroxine au milieu de culture pouvait selon les concentrations et les explants, stimuler la maturation du cartilage, retarder la croissance et provoquer la dégénérescence des cellules osseuses du poulet.

En 1962, GAILLARD (80) étudiant comparativement l'influence de la thyroxine et de la parathormone sur la structure histologique de radi embryonnaires de Souris, montrait que les effets de la thyroxine sont :

- qualitativement identiques à ceux induits par la parathormone
- quantitativement moins prononcés.

Ainsi, avons-nous, en un premier temps, confirmé par des méthodes cinétiques, la corrélation d'action "parathormone-calcitonine" dans le but d'établir une étude comparative avec celle de la thyroxine et de la calcitonine.

A) - INFLUENCE DE LA PARATHORMONE ET DE LA CALCITONINE SUR LA RESORPTION OSSEUSE " IN VITRO".

1 - Protocole expérimental.

L'action de ces hormones a été étudiée sur des calvariens (frontal + pariétal) de fœtus de rats albinos de souche Wistar. Le 17ème jour de gestation, 600 μCi de ^{45}Ca sont injectés par voie intraveineuse à la gestante, et les fœtus sont prélevés aseptiquement le 19ème jour (10 à 12 par Ratte).

Les calvariens sont disséqués puis divisés en deux afin de comparer les résultats par paire de calvariens provenant d'un même embryon.

La technique de culture utilisée est celle des "Roller-tubes" précédemment décrite.

-Le milieu standard est composé de 85 % de milieu synthétique de Hanks et de 15 % de sérum humain décomplémenté pendant une demi-heure à 56°.

- Le milieu expérimental a la même composition, les extraits hormonaux étudiés étant concentrés dans un très faible volume soit 0,25 ml pour 10 ml de milieu standard.

L'extrait parathyroïdien utilisé est la "parathormone Lilly" d'activité 100 USP par ml ; il est introduit dans le milieu standard à raison de 0,5 USP par ml.

La calcitonine est de même origine et de même activité que celle utilisée pour les études "in vivo". (Calcitonine Armour 88 U MRC par mg.). Elle est préparée par dissolution dans un tampon acétate à 1 %, pH 4, renfermant 0,1 gr de sérum albumine bovine, et est ajoutée au milieu standard à raison de 50 mU MRC par ml.

La culture est maintenue pendant 4 jours à 37° et les milieux sont changés après 48 heures, la libération de calcium 45 est évaluée au niveau de prélèvements aliquots de 20 μl de milieu, toutes les 12 heures.

2 - Résultats. (cf. graphique n° 1)

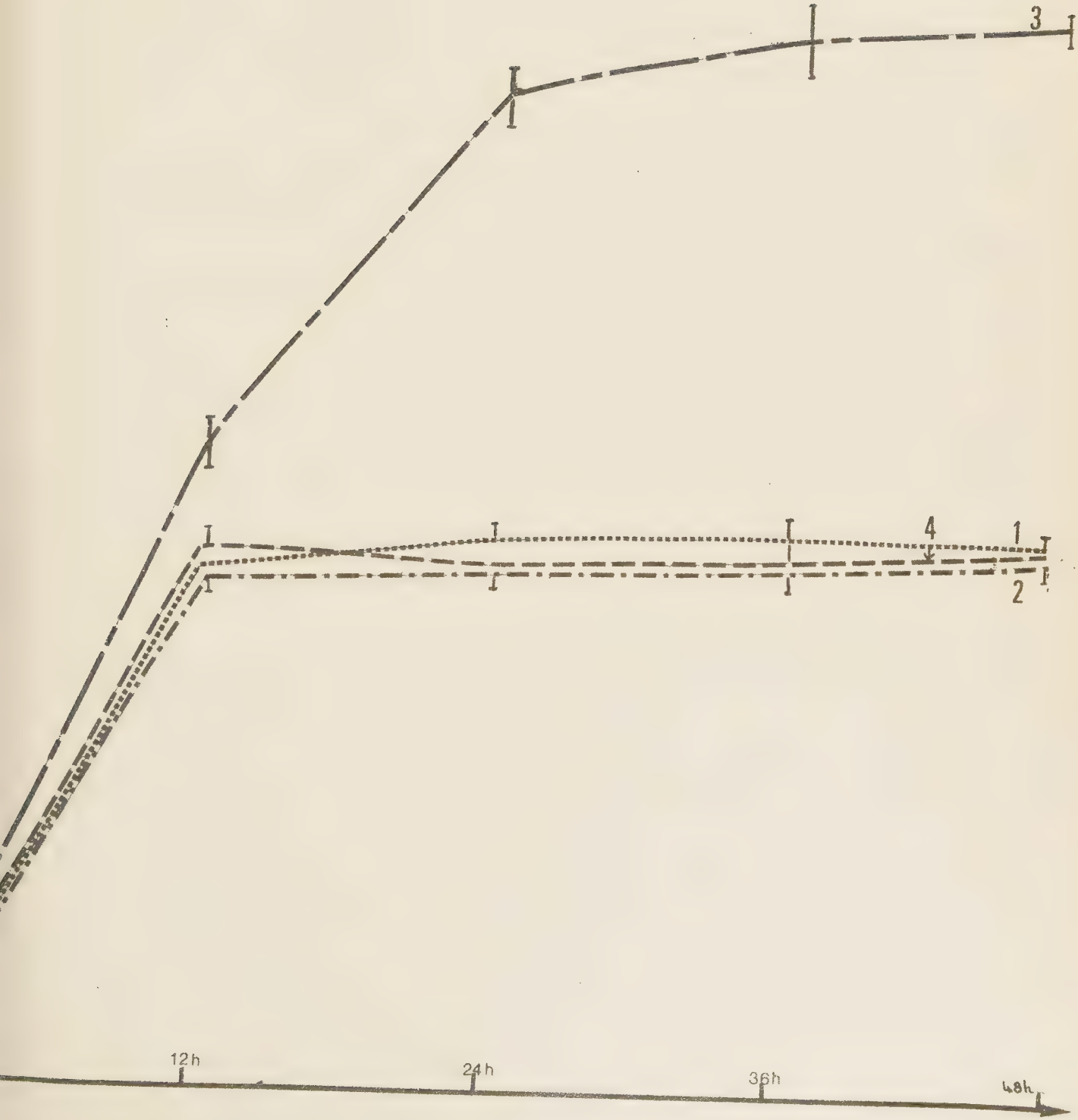
Chaque point représente la moyenne de quatre cultures de 10 explants chacune.

1 - On note une certaine quantité de ^{45}Ca libéré par les explants cultivés dans un milieu standard (courbe n° 1). Ceci correspond aux échanges passifs physico-chimiques entre le calcium radioactif de l'os et le calcium non marqué du milieu ainsi qu'à une certaine activité ostéolytique se manifestant indépendamment de tout facteur stimulant.

2 - L'addition d'extrait parathyroïdien dans le milieu de culture détermine une augmentation progressive de la libération de ^{45}Ca dans le

CPM dans 20 µl de milieu

$$I = SEM \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n(n-1)}}$$



temps (courbe n° 3).

3 - Quand un explant est soumis à l'action de l'extrait parathyroïdien pendant 48 heures, puis à l'action de la calcitonine pendant 48 heures, cette libération accrue de ^{45}Ca ne s'observe pas (courbe n° 4).

4 - Les échanges physico-chimiques entre le calcium 45 de l'os et le calcium non marqué du milieu ne semblent pas affectés par l'action de la calcitonine (courbe n° 2).

L'activité de la calcitonine peut être évaluée en pourcentage d'inhibition de libération de ^{45}Ca dans le milieu de culture.

D'après RAISZ & Coll. (191), ce pourcentage est égal à : $(1 - \frac{E}{T}) \times 100$, où :

E = correspond dans la présente étude au nombre de coups/minute de ^{45}Ca dans 0,1 ml de milieu renfermant de l'extrait parathyroïdien pendant 96 heures (changement de milieu à la 48ème heure - prélèvement dans le deuxième milieu).

et T = le nombre de coups/minute de ^{45}Ca dans 0,1 ml de milieu renfermant de l'extrait parathyroïdien pendant 48 heures puis de la calcitonine pendant les 48 heures suivantes.

Le pourcentage obtenu est de 50 %, ce qui est en accord avec les résultats de RAISZ & Coll. (191).

L'ensemble de ces résultats confirme donc l'activité inhibitrice de la calcitonine sur la résorption osseuse.

B) ETUDE DE LA CORRELATION D'ACTION DE LA THYROXINE ET DE LA CALCITONINE, "IN VITRO".

1 - Protocole expérimental.

L'action de la thyroxine et de la calcitonine a été étudiée sur des calvariens de fœtus de Rat selon un processus expérimental identique au précédent.

L'extrait parathyroïdien utilisé est la "Parathormone Lilly" introduite dans le milieu à raison de 0, 5 USP par ml.

La calcitonine est la même que celle utilisée précédemment, 1 ml de milieu renfermant 50 mU MRC.

Enfin, l'extrait thyroïdien est la "thyroxine Roche" : 1 ml de milieu de culture contenant 2 μg de thyroxine en solution dans Na_2Co_3 à 0,1 %.

Ces différents extraits hormonaux sont concentrés dans un faible volume : 0,25 ml pour 10 ml de milieu standard composé de :

85 % de milieu synthétique de Hanks et de,

15 % de sérum humain décomplémenté à 56° pendant 30 minutes

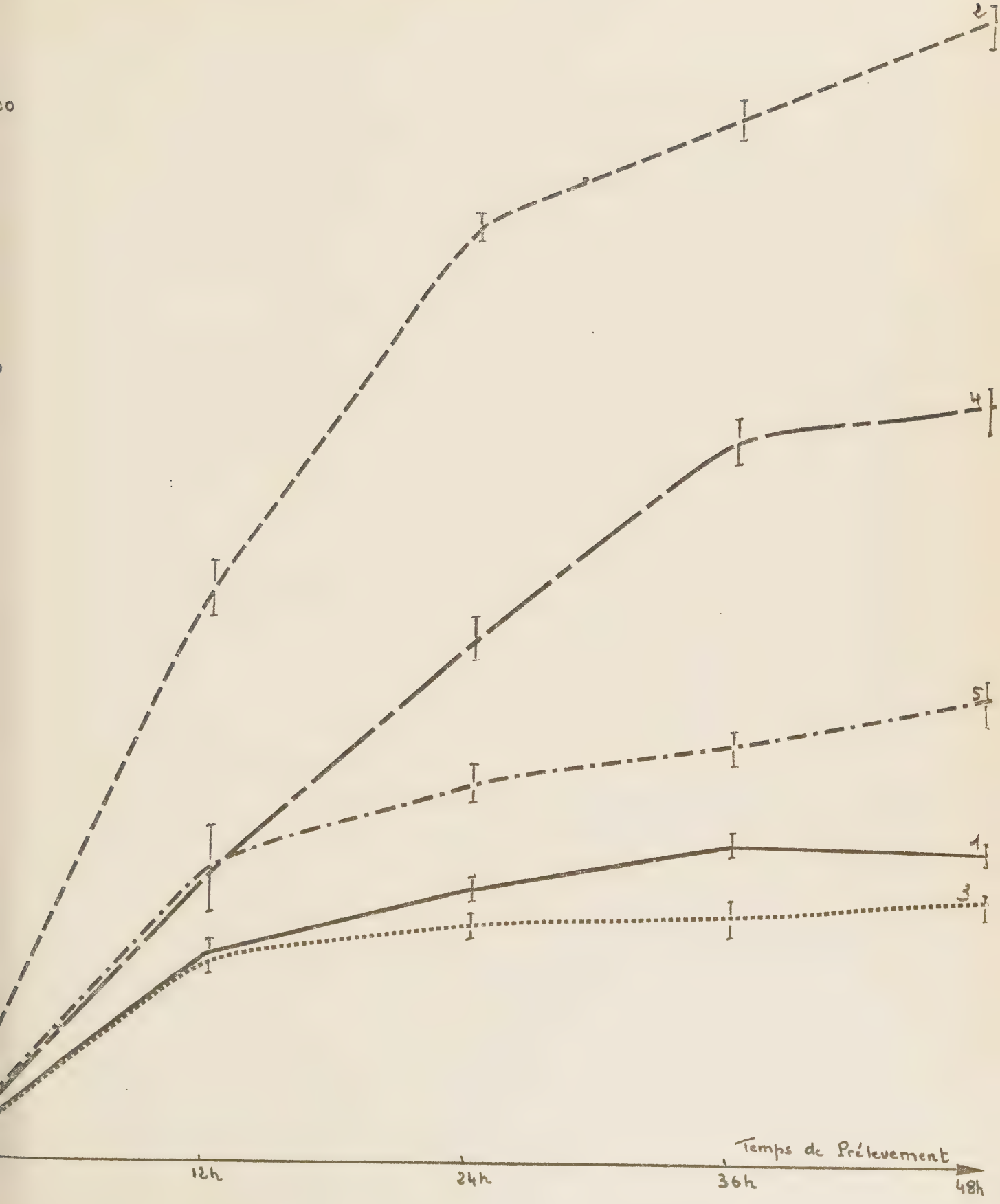
Les milieux sont changés au bout de 48 heures de culture et l'inhibition du catabolisme osseux est évalué en pourcentage de ^{45}Ca libéré dans 20 μl de milieu prélevé toutes les 12 heures.

2 - Résultats. (cf graphique n° 2).

Chaque point représente la moyenne des résultats de 4 cultures paires de 10 explants chacune.

$$I = SEM = \pm\sqrt{\frac{\varepsilon d^2}{n(n-1)}}$$

CPM dans 20 µl de milieu



Graphique 2

Les courbes 2 et 3 traduisent la libération de ^{45}Ca par des cultures paires de calvariens dont une moitié est soumise à l'action de l'extrait parathyroïdien pendant 96 heures, (courbe 2), l'autre moitié à l'action de cette même hormone pendant 48 heures, puis à celle de la calcitonine pendant un temps égal. (courbe 3).

Les courbes 4 et 5 représentent également la libération de ^{45}Ca par des cultures paires de calvariens, mais dont une moitié est mise en présence de thyroxine pendant 96 heures (courbe 4), l'autre seulement durant 48 heures, la calcitonine étant ensuite introduite dans le milieu pendant une durée de temps égal. (courbe 5).

Enfin, la courbe 1 représente la libération de ^{45}Ca par des explants maintenus en culture dans un milieu standard dépourvu de tout facteur favorisant l'ostéolyse ; elle traduit les échanges passifs physico-chimiques entre le calcium 45 de l'os et celui non marqué du milieu, ainsi que l'activité ostéolytique se manifestant au niveau de tout os en survie.

De l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que, aux doses utilisées, la calcitonine inhibe la résorption osseuse induite par la thyroxine (courbes 4 et 5).

Cependant, le pourcentage d'inhibition de l'ostéolyse au niveau des calvariens préalablement soumis à l'action de la thyroxine est nettement inférieur à celui noté au niveau des calvariens préalablement soumis à l'action de l'extrait parathyroïdien.

Ce pourcentage est de 30 % dans le premier cas, et, de 50 % dans le second.

3 - Discussions.

Cette divergence de résultats semble pouvoir s'expliquer par une différence dans le niveau du catabolisme osseux induit par chacune des hormones : thyroxine et parathormone.

Ceci rejoint d'ailleurs les conclusions de GAILLARD (80) sur la comparaison histologique des effets qualitatifs et quantitatifs de ces deux hormones.

Il est toutefois prématuré de vouloir tirer des conclusions de ces résultats, certains critères pouvant amener quelques restrictions.

1 - La valeur de la dose d'hormone introduite dans le milieu.

D'après les travaux de GAILLARD (80), une concentration de 2 µg de thyroxine par ml de milieu n'induit que 24 % des effets déterminés comme indices histologiques d'une action ostéolytique.

De plus, cet auteur, étudiant comparativement l'action de diverses concentrations de thyroxine (2, 0,2, 0,02 µg par ml de milieu) obtient une baisse significative des effets histologiques avec la décroissance de la dose utilisée.

Par contre, pour FELL et MELAMBY (67), une concentration de 0,2 µg de thyroxine par ml de milieu correspond à la concentration plasmatique de cette hormone chez un hyperthyroïdien.

2 - Le rapport des doses respectives de thyroxine et de parathormone.

Les conclusions de GAILLARD (80) sont basées sur une étude comparative de l'action de la parathormone et de la thyroxine introduites

dans le milieu de culture aux doses respectives de 0,1 USP et de 2 µg par ml de milieu.

D'autre part, FRIEDMAN & Coll. (78) ont montré que l'augmentation de la concentration de la parathormone dans le milieu ne déterminait pas une augmentation de l'activité de la calcitonine.

Aussi, pouvons-nous penser que le rapport des doses d'extrait parathyroïdien et de thyroxine que nous avons utilisées explique les résultats obtenus. Cette explication très hypothétique demande une confirmation

3 - La présence de protéines introduites dans le milieu par l'addition de plasma humain.

Il faut, en effet, envisager qu'un certain pourcentage de thyroxine doit se lier à ces protéines jouant le rôle des protéines vectrices du plasma.

Il a été montré (80) que, dans de telles conditions, la fixation cellulaire de thyroxine varie en sens inverse de la capacité de cette hormone de se lier aux protéines extra-cellulaires, et directement avec la masse cellulaire et la quantité absolue d'hormone.

GAILLARD (80) montre d'ailleurs que l'équilibre réversible de cette liaison varie de façon significative avec le pH du milieu, l'acidité favorisant la fixation de thyroxine sur les protéines.

Malgré les différentes objections soulevées et auxquelles nous ne répondons pas dans ce travail par suite de l'utilisation très récente de ces techniques "in vitro", les résultats obtenus confirment cependant ceux de l'étude "in vivo" : thyroxine et calcitonine interagissent au niveau de l'os.

CONCLUSIONS

La découverte en 1962-1963 d'un nouveau facteur intervenant dans le métabolisme calcique est venu modifier profondément la physiologie de la glande thyroïde et la conception de l'homéostasie calcique.

I - La confirmation de l'origine thyroïdienne de la calcitonine et l'indépendance de cette hormone par rapport au contrôle hypothalamo-hypophysaire, contrairement à la thyroxine, font apparaître la thyroïde comme une glande endocrine à double polarité.

II - Les bilans calciques effectués au moyen de ^{45}Ca permettent d'apprécier l'importance de la thyroxine dans le métabolisme du calcium et plus précisément au niveau du catabolisme osseux (V_{o-}).

L'administration de thyroxine à l'animal rendu hypothyroïdien tend à rétablir la valeur de V_{o-}, nettement diminuée au cours de l'hypothyroïdie.

III - L'activité hypocalcémiante de la calcitonine perd de son intensité en l'absence de thyroxine. Cette activité tend toutefois à être rétablie en présence de thyroxine exogène.

La thyroxine parait donc avoir une influence sur l'activité hypocalcémiante de la calcitonine en assurant le niveau de catabolisme osseux nécessaire à cette action spécifique.

Il semble toutefois qu'il existe pour ce catabolisme un seuil au-dessous duquel toute activité hypocalcémiante de la calcitonine est inhibée.

IV - L'observation des variations structurales et fonctionnelles des cellules C, notamment leur prolifération chez l'animal rendu hypothyroïdien, suggère que la calcitonine normalement sécrétée chez cet animal ne peut agir au niveau périphérique, le catabolisme osseux étant trop faible.

V - Enfin, "in vitro", une étude cinétique de l'action de la thyroxine et de la calcitonine sur le catabolisme osseux parait confirmer que l'interaction de ces deux hormones se situe au niveau de l'os.

En résumé, il ressort de ce travail que, si chez les mammifères la thyroïde sécrète deux hormones de nature et de site cellulaire différents, celles-ci ont une interaction au niveau de l'organe cible : l'os.

Le point capital reste constitué par le fait que la thyroxine a une influence indéniable sur l'activité de la calcitonine et que, dans l'éventualité d'une utilisation thérapeutique de cette hormone, son interaction avec la thyroxine devra toujours être considérée.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ALIAPOULIOS (MA) - GOLDHABER (P.) - MUNSON (PL).
"Thyrocalcitonin inhibition of bone resorption induced by parathyroid hormone in tissue culture". - Science - 1966, 151, 330.

2 - ALDRED (J.P) - SCHUETER (R.J)
"Studies of thyrocalcitonin inactivation in vitro". - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1969, 130, 630.

3 - ALONSO (G.L) - MESTORINO (R.J.) - HOUSSAY (A.B.)
"Kinetics of calcium metabolism in thyroidectomized rats". - Endocrinol. - 1966, 78, 240.

4 - ALTMANN (H.W.)
Beitr. Pathol. Anat. - 1940, 104, 420.

5 - AOI (T.)
"Electron microscopic studies of the follicle cells and parafollicular cells in the thyroïd gland of the primates". - Okajimas Fol. Anat. Jap. - 1966, 42, 63.

6 - ARDAILLOU (R.) - FILLASTRE (J.P) - MILHAUD (G.) - ROUSSELET (F.) - DELAUNAY (F.) - RICHET (G.)
"Renal excretion of phosphate calcium and sodium during and after a prolonged thyrocalcitonin infusion in man". - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - May 1969, 131, 56.

7 - ARDAILLOU (R.) - VUAGNAT (P.) - MILHAUD (G.) - RICHET (G.)
"Effets de la thyrocalcitonine sur l'excrétion rénale du phosphore du calcium et des ions H^+ chez l'homme normal". - Physiol. Paris - 1967, 59, 204.

8 - ARDAILLOU (R.) - MILHAUD (G.) - ROUSSELET (F.) - VUAGNAT (P.) - RICHET (G.)
"Effet de la thyrocalcitonine sur l'excrétion rénale du sodium et du chlore chez l'homme normal". - C.R. Acad. Sc. - 1967, 264, 3037.

9 - ASTWOOD (E.B.)
"Chemotherapy of hyperthyroidism". - The Harvey lectures - 1945, 40, 195.

10 - AUB (J.C.) - BAUER (W.) - HEATH (C.) - ROPES (M.)
"Studies of calcium and phosphorus metabolism". - J. Clin. Invest. - 1929, 7, 97.

11 - AUBERT (J.P.) - CHEBIAN (A.G.) - MOUKHTAR (M.S.) - MILHAUD (G.)
"Etude du métabolisme du calcium chez le rat à l'aide du calcium 45 - la thyroparathyroïdectomie et l'effet de la thyroxine et de la parathormone". - Bio. Chem. Pharmacol. - 1964, 13, 31.

12 - AXCERAD (A.) - LEBLOND (C.)
"Induction of thyroïd tumors in rats by a low iodine diet". - Cancer - 1955, 8, 339.

13 - AZZALI (G.)
"Prime osservazioni al microscopio electronico sulle cellule parafollicolari della tiroide". - Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 1962, 38, 1319.

14 - AZZALI (G.)
"Ultrastructure des cellules parafolliculaires de la thyroïde chez quelques mammifères". - Ann. Endocr. - 1964, 25, 8.

15 - BABER (E.C.)
"Contributions to the minute anatomy of the thyroïd gland of the dog". - Proc. R. Soc. - 1876, 24, 240.

16 - BAGHDIANTZ (A.) - BLANQUET (P.) - CROIZET (M.) - MOURA (A.M.) - TAYEAU (F.)
"A propos du facteur hypocalcémiant de la thyroïde (calcitonine)" C.R. Acad. Sc. Paris - 1965, 261, 2779.

17 - BAGHDIANTZ (A.) - FOSTER (G.V.) - EDWARDS (A.) - KUMAR (M.A.) - SLACK (E.) - SOLIMAN (H.A.) - MacINTYRE (I.)
"Extraction and purification of calcitonin". - Nature - 1964, 203, 1027.

18 - BARTIER (F.C.) - PAK (C.Y.C.) - LIESCHITZ (M.) EAST (D.)
"The role of calcium infusions and thyrocalcitonin in the treatment of metabolic bone diseases". - Proceedings of Symposium on thyrocalcitonin and "C" cells. - Abstracts - July 1969, 21,24.

19 - BAYLINK (D.) - MOREY (E.) - RICH (C.)
"Effect of calcitonin on the rats of bone formation and resorption in the rat". - Endocr. - 1969, 84, 261.

20 - BEAUMONT (G.E.) - DODDS (E.C.) - ROBERTSON (J.D.)
"Calcium and phosphorus metabolism in thyrotoxicosis". - J. Endocrinol. - 1940, 2, 237.

21 - BECKS (H.) - RAY (R.D.) - SIMPSON (M.E.) - EVANS (H.M.)
"Effect of thyroxine and the anterior pituitary growth hormone on endochondral ossification". - Arch. Pathol. - 1942, 34, 334.

22 - BECKS (H.) - SIMPSON (M.E.) - EVANS (H.M.) - RAY (R.D.) LI (C.H.) - ASLING (C.W.)
"Response to pituitary growth hormone and thyroxine on the tibias of hypophysectomized rats after long post operativ intervals". - Anat. Rec. - 1946, 94, 631.

23 - BELL (P.H.) - BARG (W.F. Jr) - COLUCCI (D.F.) - DAVIES (M.C.) - DZIOBKOWSKI (C.) - ENGLERT (M.E) - HEYDER (E.) - PAUL (R.) - SNEDEKER (E.H.)
"Purification and structure of porcine calcitonin - 1 -" - J. Amer. Chem. Soc. - 1968, 90, 2704.

24 - BENOIT (J.) - ASSENMACHER (I.)
"Le contrôle hypothalamique de l'activité préhypophysaire gonadotrope". - J. Physiol. - 1955, 47, 427.

25 - BENSLEY (R.R.)
"The thyroid gland of the opossum". - Anat. Rec. - 1914, 8, 431.

26 - BIELSCHOWSKY (F.)
"Chronic iodine deficiency as cause of neoplasia in thyroid and pituitary of aged rats". - Brit. J. Cancer. - 1953, 7, 203.

27 - BLANQUET (P.) - MEYNIEL (G.) - CROIZET (M.) - Le DAIN (M.)
"A propos de l'action du 6 n-propylthiouracile sur le métabolisme thyroïdien du rat". - C.R. Acad. Biol. - 1962, 8, 1386.

28 - BORLE (A.B.)
"Calcium transport in cell culture and the effects of parathyroid hormone". - in : Parathyroid hormone and Thyrocalcitonin . Ed : Talmage (R.V.) - Belanger (L.F.) - Clark (I.) - Excerpta Medica Foundation - 1968, p. 258.

29 - BORLE (A.B.)
"Effects of thyrocalcitonin on calcium transport in Kidney cells". - Endocr. - 1969, 85, 194.

30 - BRAUNSTEIN (H.) - STEPHENS (C.L)
"Parafollicular cells of human thyroid". - Arch. Path. (Chicago) - 1968, 86, 659.

31 - BREUER (R.L.) - Mac PHERSON (H.T.)
"Hypercalcemia in concurrent hyperthyroïdism and hyperparathyroïdism". - Arch. Intern. Med. U.S.A. - 1966, 118, 310.

32 - BREWER (H.B.)
"Bovine thyrocalcitonin". - in : "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. Ed : Taylor, Foster - Heinemann - London 1969, p. 14.

33 - BIEDL (A.)
"Innere sekretion" - Berlin : Urban and Schwarzenberg 1922, 1, 160.

34 - CARE (A.D.) - KEYNES (W.M.)
"The secretion of calcitonin by the parathyroid glands of the sheep" J. Endocr. - 1965, 31, XXXI

35 - CARE (A.D.) - DUNCAN (T)
"Age as a factor in the response to thyrocalcitonin secretion". - Endocr. - Janvier 1967, 37, 107.

36 - CARE (A.D.) - DUNCAN (T.) - WEBSTER (D.)
"Further evidence for thyrocalcitonin secretion in the pig". - J. Endocr. - 1965, 34, XI

37 - CARE (A.D.)
"Secretion of thyrocalcitonin". - Nature London - 1965, 205, 1289.

38 - CARE (A.D.) - DUNCAN (T.) - WEBSTER (D.) -
"The effect of anti-thyroid drugs on the production of thyrocalcitonin". - J. Endocr. - 1966, 35, XXVII

39 - CARE (A.D.) - ANDERSON (L.L.) - COOPER (C.W.) - OXENREIDER (S.L.) - PHILLIPO (M.)
"Effect of hypophysectomy on secretion of porcine thyrocalcitonin in vivo". - J. Endocr. - G.B. - 1969, 43 n° 4, 679.

40 - CARVALHEIRA (A.F) - PEARSE (A.G.E.)
"The cytology and cytochemistry of the "C" cells in the thyroid gland of the pig". - J. Roy. Micr. Soc. - 1967, 86, 203.

41 - CHASE (L.R.) - AURBACH (G.D.)
"Parathyroid function and the renal excretion of 3-5 adenylic acid". - Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. - 1967, 58, 518.

42 - CHASE (L.R.) - FEDAK (S.A.) - AURBACH (G.D.)
"Activation of skeletal adenyl cyclase by parathyroid hormone in vitro". - Endocr. - 1969, 84, 761.

43 - CLARK (J.D.) - KENNY (K.D.)
"Hog thyrocalcitonin in the dog : urinary calcium, phosphorus, magnesium and sodium responses". - Endocr. - 1969, 84, 1199.

44 - CLARK (I.)
"The effects of magnesium on Ca and P metabolism". - IV° Symposium des Tissus Calcifiés. Ed by Gaillard. Van der Hooff. Steendijk. - Excerpta Medica Foundation - Amsterdam - 1966, p. 114.

45 - COLLIP (J.B.)
"The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium". - J. Biol. Chem. - 1925, 63, 395.

46 - COPP (S.H.) - HENZE (K.G.)
"Parathyroid origin of calcitonin. Evidence from perfusion of sheep glands". - Endocr., 1964, 1, 49.

47 - COPP (D.H.) - CAMERON (E.C.) - CHENEY (B.A.) - DAVIDSON (A.G.F.) - HENZE (K.G.)
"Evidence for calcitonin. A new hormone from the parathyroid that powers blood calcium". - Endocr. - 1962, 70, 638.

48 - COPP (D.H.) - KUCZERPA (A.V.)
"A new bioassay for calcitonin and effect of age and dietary Ca on the response". - in "Calcitonin" - Proceedings of the Symposium on thyrocalcitonin and the "C" cells. - Ed. Taylor. Heinemann - London 1967, p. 18.

49 - COPP (D.H.) - COCKCROFT (D.W.) - KUEH (Y.)
"Calcitonin from ultimobranchial glands of dogfish and chickens". Science - 1967, 158, 924.

50 - COPP (D.H.) - COCKCROFT (D.W.) - KUEH (Y.)
"Ultimobranchial origin of calcitonin, hypocalcemic effect of extracts from chicken glands". - Canad. J. Physiol. Pharmacol. 1967, 45 n° 6, 1095.

51 - COPP (D.H.) - LOW (B.S.) - ODOR (R.K.) - PARKES (C.O)
"Calcitonin in non mammab". - Calcif. Tissue Res. Suppl. - 1968, 29,

52 - COPP (D.H.) - BROOKS (C.E.) - LOW (B.S.) - NEWSOME (F.) O'DOR (R.K.) - PARKES (C.O) - WALKER (V.) - WATTS (E.G) "Calcitonin and ultimobranchial function in lower vertebrates" - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. Ed. Taylor. Foster. Heinemann - London 1969, p. 281.

53 - CRANE (J.T.) - PICKERING (D.E.) - Van WAGENEN (G.) - SMYTH (F.S.)
"Growth and metabolism in normal and thyroid ablated rhesus monkeys. 7) morphology of normal and thyroid ablated infant rhesus monkeys skeletal system". - Am. J. Dis. Child. - 1954 87, 708.

54 - DAMBACHER (M.A) - GUNCAGA (J.) - HAAS (H.G.)
"Phosphaturic effect of calcitonin and parathyroid hormone in hypoparathyroid patients". - Proceedings of symposium on thyrocalcitonin and "C" cells. Abstracts, July 1969, 21-24.

55 - DAVID (N.J.) - VERNER (J.V.) - ENGEL (F.L.)
"Hypercalcemia in thyrotoxicosis". - Am. J. Med. - 1962, 33, 94.

56 - DELLING (G.) - SCHÄFER (A.) - SCHLEIDER (H.J) - ZIEGLER (R.)
"Die wirkung von Calcitonin auf die experimentelle lokalisierte Knochenatrophie". - 14. Symp. Dtsch. Ges. Endokrinol. Köln 1968.

57 - DELLING (G.) - SCHAEFFER (A.) - ZIEGLER (R.)
"The effect of calcitonin on fracture treating and ectopic bone formation". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. Ed. by Taylor. Foster . Heinemann - London, 1969 p. 175.

58 - DOTY (S.B.) - SCHOFIELD (B.H.) - ROBINSON (R.A.)
"The electron microscopic identification of acid phosphatase and adenosinetriphosphatase in bone cells following parathyroid extract on thyrocalcitonin administration". - "Parathyroid hormone and thyrocalcitonin". Ed. Talmage. Belanger - Excerpta Medica Foundation - 1968, p. 169.

59 - DUBOIS (R.) - BARAN (D.) - DELCOURT (J.) - LOEB (H.) - CREMER (N.)
"Hypothyroïdie avec condensation osseuse et néphrocalcinose". Acta Paediat. Belg. - 1966, 20, 5

60 - DUMONT (L.)
"Les cellules parafolliculaires de la thyroïde du lapin, leur rapport avec le canal thyréoglosse". - Ann. Endocr. - Paris - 1956, 17, 700.

61 - DUNCAN (T.) - CARE (A.D.)
"The effect of anti-thyroid drugs on thyrocalcitonin secretion". Brit. J. Surg. - 1967, 54, 196.

62 - EHRENBRAND (F.)
"Untersuchungen über genese und funktion der parafollikulären Zellen der Schildrüse". - Z. Mikroskop. Anat. Forsch. - 1954, 60, 337.

63 - EKHOLM (R.)
"Thyroid gland". - In S.M. Kurtz's electron microscopic anatomy - Acad. Press. New-York, 1964, 221, 237.

64 - ENGFELDT (B.) - HJERTQUIST (S.O.)
"The functional relation between the thyroid and parathyroids and the effect of the thyroid on bone tissue". - Acta Endocr. 1954, 15, 109.

65 - EPSTEIN (F.H.) - FRIEDMAN (L.R.) - LEVITIN (H.)
"Hypercalcemia, nephrocalcinosis, and reversible renal insuffisiency associated with hyperthyroidism". New England J. Med. 1958, 258, 782.

66 - FALCK (B.)
"Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method". - Acta Physiologica Scandinavica. - 1962, 56 suppl. 197, 1.

67 - FELL (H.B.) - MELLANBY (E.)
"The biological action of thyroxine on embryonic bone grown in tissue culture". - J. Physiol. - 1955, 127, 427.

68 - FLAMAGAN (B.) - NICHOLS (G. Jr)
"Bone matrix turn-over and balance in vitro; 1. the effects of parathyroid hormone and thyrocalcitonin". - J. Clin. Invest. 1969, 48, 595.

69 - FOSTER (G.V.) - MacINTYRE (I.) - PEARSE (A.G.E.)
"Calcitonin production and the mitochondrionrich cells of the dog thyroid". - Nature - 1964, 203, 1029.

70 - FOSTER (G.V.) - BAGHDIANTZ (A.) - KUMAR (H.A.) - SLACK (E.) - SOLIMAN (H.A.) - MacINTYRE (I.)
"Thyroid origin of calcitonin". - Nature, 1964, 202, 1303.

71 - FOSTER (G.V.) - KUMAR (M.A.) - BAGHDIANTZ (A.) - SOLIMAN (H.) - SLACK (E.) - De BATS (A.) - MacINTYRE (I.)
"Preliminary studies on the origin of calcitonin". - Second symposium européen "Calcified Tissues". Liège 1964, Ed. Richelle. Dallemagne - Liège 1965, p. 401.

72 - FOSTER (G.V.) - DOYLE (F.H.) - BORDIER (P.) - MATRAJT (H.) TUN-CHOT (S.)
"Roentgenologic and histologic changes in bone produced by thyrocalcitonin". - Amer. J. Med. - 1967, 43, 691.

73 - FOSTER (G.V.)
"Calcitonin (thyrocalcitonin)". - New England Journal of Med. 1968, 279, 349.

74 - FRANZ (J.)
"Aminosaurezusammensetzung und tryptischer abban von thyrocalcitonin aus schweineschilddrüsen." - Helvet. Chim. Acta. 1968, 51, 218.

75 - FRIEDLAND (J.A.) - WILLIAMS (G.A.) - BOWSER (E.N.) HENDERSON (W.J.) - HOFFEINS (E.)
"Effect of hyperthyroïdism on intestinal absorption of calcium in the rat". - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1965, 120, 20.

76 - FRIEDMAN (J.) - RAISZ (L.G)
"Thyrocalcitonin : inhibitor of bone resorption in tissue culture". Science - 1965, 150, 1465.

77 - FRIEDMAN (J.G.)
"Inhibition of bone resorption by TC in tissue culture". - Dissert. Abstr. BUSA - 1968, 28, 3855.

78 - FRIEDMAN (J.) - AU (W.Y.W.) - RAISZ (L.)
"Responses of fetal rat bone of TC in tissue culture". - Endocr. 1968, 82, 149.

79 - GABBIANI (G.) - TUCHWEBER (B.) - COTE (G.)
"Interactions of parathyroïd hormone, thyroxine and calcitonin". Calcified Tissue Res. - 1968, Suppl. 76.

80 - GAILLARD (P.J.)
"A comparative study on the influence of thyroxine and parathyroid extract on the histological structure of the explanted embryonic radius rudiment". - Acta Morphologica Neerlando Scandinovica - 1962, 5, 21.

81 - GAILLARD (P.J.)
"Bone cultures studies with calcitonin". - in "4th European symposium on calcified tissues. Excerpta Medica International Congress Series 1966, 120, 32.

82 - GAILLARD (P.J.)
"Bone culture studies with thyrocalcitonin". - Proc. Koninklijke Nederlandsche Akademic van Wetenschappen - Amsterdam Proceeding series C 1967, 70, 309.

83 - GAILLARD (P.J.) - THESINGH (C.W.)
"Bone culture studies with thyrocalcitonin". - in "Calcitonin" Symposium on thyrocalcitonin and the "C" cells - July 1967, Heinemann London - 1968, p. 238.

83* - GALANTE (L.) - GUDMUNDSSON (T.U.) - MATTHEWS (E.W.) - TSE (A.) - WILLIAMS (E.D.) - WOODHOUSE (N.J.) - Mac INTYRE (I.)
"Thymic and parathyroid origin of calcitonin in man". - Lancet 1968, 2, 537.

84 - GITTES (R.F.) - IRWIN (C.L.)
"Roles of thyroxine and thyrocalcitonin in the response to hypercalcemia in rats". - Endocr. - 1966, 79, 1033.

85 - GITTES (R.F.) - WELLS (S.A.)
"Thyrocalcitonin treatment of experimental hyperparathyroïdism in rats". - Journal of Surgical Research - 1967, 7, 1.

86 - GITTES (R.F.) - TOVERUD (R.U.) - COOPER (C.W.)
"Effects of hypercalcemia and hypocalcemia on the thyrocalcitonin content of rat thyroid glands". - Endocr. 1968, 82, 83.

87 - GODWIN (M.C.)
"Complex IV in dog with special emphasis on relation of ultimobranchial body to interfollicular cells in posnatal thyroid gland". Amer. J. Anat. - 1937, 60, 299.

88 - GOLDHABER (P.)
"Some factors affecting bone resorption in tissue culture". - J. Bone Jt Surg. - 1961, 43 b, 180.

89 - GOLDHABER (P.)
"Some chemical factors influencing bone resorption in tissue culture". - in "Mechanisms of hard tissue destruction" - Sognnacs (RF) Ed. - Washington DC. American Association for the advancement of Science - 1963, p. 609.

90 - GREVEN (H.M.) - TAX (L.J.W.)
"Synthesis of human calcitonin". - in "Calcitonin 1969" - Proce-Proceedings of the second international symposium - Ed; Taylor Foster - Heinemann - London, 1969, p. 34.

91 - GUDMUNDSSON (T.V.) - MacINTYRE (I.) - SOLIMAN (H.A.)
"The isolation of thyrocalcitonin and a study of its effects in the rat". - Proc. Roy. Soc. - 1966, 164, 460.

92 - GUDMUNDSSON (T.V.) - BYFIELD (P.G.H.) - GALANTE (L.) MacINTYRE (I.)
"The purification of calcitonin". - in "Calcitonin" - Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the "C" cells. Ed. by Taylor. Heinemann London - 1967, p. 51.

93 - GUDMUNDSSON (T.V.) - GALANTE (L.) - HORTON (R.) - MATTHEWS (E.W.) - WOODHOUSE (N.Y.) - MacINTYRE (I.) NAGANT de DEUXCHAISNES (C.)
"Human plasma calcitonin". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. - Ed. Taylor. Foster. Heinemann London. 1969, p. 102.

94 - GUTTMANN (S.T.) - PLESS (J.) - SANDRIN (E.D.) - JAQUENOUD (P.A.) - BOSSERT (H.) - WILLEMS (H.)
"Synthèse des thyréocalcitonins" - Helv. Chim. Acta. - 1968, 51, 1155.

95 - GUTTMANN (S.T.) - PLESS (J.) - HUGUENIN (R.L.) - SANDRIN (E.D.) - BOSSERT (H.) - ZEHNDER (K.) -
"Synthesis of a highly potent hypocalcaemic dotriacontapeptide having the properties of salmon calcitonin". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium - Ed. Taylor. Foster - Heinemann London - 1969, p. 75.

96 - HANSON (A.M.)
"The hormone of the parathyroid gland". - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1924, 22, 560.

97 - HARANSON (R.) - OWMAN (C.H.)
"Biochem. Pharmacol. - 1966 15, 489.

98 - HARGIS (G.K.) - WILLIAMS (G.A.) - TENENHOUSE (A.) - ARNAUD (C.D.)
"Thyrocalcitonin : Cytological localisation by immunofluorescence". - Science - 1966, 152, p. 73.

99 - HAWKER (C.D.) - RASMUSSEN (H.) - GLASS (J.D.)
"Progress on the isolation of porcine thyrocalcitonin". - Amer. J. Med. - 1967, 43, 656.

100 - HAWKER (C.D.) - RASMUSSEN (H.) - GLASS (J.D.)
"Concerning the isolation of thyrocalcitonin". - Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. - 1967, 58, 1535.

101 - HEERSCHE (J.N.M.)
"The effect of thyrocalcitonin and parathyroid hormone on the metabolism of bone in tissue culture". - Thèse Leiden (Pays-Bas) 1969.

102 - HINDE (F.) - PHILLIPO (M.)
"The effect of oestrogen on the response to thyrocalcitonin in the rat". - J. Physiol. (London) - 1968, 194, 43.

103 - HIRSCH (P.F.) - GAUTHIER (G.F.) - MUNSON (P.L.)
"Thyroid hypocalcemic principle and recurrent laryngeal nerve injury as factors affecting the response to parathyroidectomy in rats". - Endocr. - 1963, 73, 244.

104 - HIRSCH (P.F.) - MUNSON (P.L.)
"Hypocalcemic effect of thyroid extracts in rats". - Pharmacologist. 1963, 272.

105 - HIRSCH (P.F.) - VOELKEL (E.F.) - MUNSON (P.L.)
"Thyrocalcitonin : hypocalcemic, hypophosphatemic principle of the thyroid gland". - Science - 1964, 146, 412.

106 - IBBERTSON (H.K.) - ROCHE (A.M.) - PHYBUS (J.)
"The thyroid and calcium homeostasies in man. Evaluation by calcium infusion". - Aust. Ann. Med. - 1967, 16, 121.

107 - IIONO (S.) - YAMADA (T.) - GREER (M.A.)
"Effects of graded doses of propylthiouracil on biosynthesis of thyroid hormones". - Endocr. - 1961, 68, 582.

108 - IIONO (S.)
"Comparison of the effects of various goitrogens on the biosynthesis of thyroid hormones in vitro". - Acta Endocr. 1961, 36, 212.

109 - ISHIKAWA (K.)
"Electron microscopical studies of the ultimobranchial body of the rat in embryonic life, with special emphasis on its fate. The relation to the thyroid tissue and parafollicular cells". - Okajimas Fol. Anat. Jap. - 1965, 41, 313.

110 - JACKSON (C.E.) - WEBSLER (J.S.) - TALBERT (P.C.) - CAYLOR (H.D.)
"Concomitant hyperparathyroïdism as a cause of the hypercalcemia associated with hyperthyroidism". - Ann. Int. Med. 1961, 54, 992.

111 - JEUNE (M.) - JOSSERAND (P.) - SALLE (B.) - BONNEFOY (S.)
"Idiopathic hypercalcemia of a severe type in infants contribution to the study of its development and prognosis". - Pediatric. 1964, 19, 169

112 - JOB (J.C.) - RIBIERRE (M.) - BADOUAL (J.)
"Hypercalcémie, hypercalciurie et diminution du pouvoir concentrateur du rein au cours du traitement de l'hypothyroïdie congénitale". Arch. - Fred. Ped. - 1963, 20, 1033.

113 - JOB (J.C.) - MILHAUD (G.) - ROSSIER (A.)
"Effet hypocalcémiant de la thyrocalcitonine chez l'enfant normal et l'enfant hypothyroïdien". - Ped. Res. - 1967, 1, 271.

114 - JOB (J.C.) - MILHAUD (G.) - ANTENER (I.) - ROSSIER (A.)
"Les anomalies du métabolisme calcique chez les enfants hypothyroïdiens". - Sem. Hôp. Ann. Pediatr. Fr. - 1967, 43, 2412.

115 - JOHNSTON (C.C.) - DEISS (W.P.)
"An inhibitory effect of thyrocalcitonin on calcium release"in vivo" and on bone metabolism "in vitro". - Endocr. - 1966, 78, 1139.

116 - JOWSEY (J.) - DETENBECK (L.C.)
"Importance of thyroid hormones in bone metabolism and calcium homeostasis". - Endocr. - 1969, 85, 87.

117 - KAHNT (.F.W) - RINIKER (B.) - MacINTYRE (I.) - NEHER (R.)
"Thyrocalcitonin I. Isolierung und charakterisierungwirksamer peptide aus schweineschilddrüsen". - Helvet. Chim. Acta. - 1968, 51, 1738.

118 - KAHNT (F.W.) - RINIKER (B.) - MacINTYRE (I.) - NEHER (R.)
"Thyrocalcitonin. 1) Isolation and characterisation of active peptides from pig thyroids". - Helv. Chim. Acta. - 1968, 51, 214.

119 - KLEIN (D.C.) - TALMAGE (R.V.)
"Effect of hog thyrocalcitonin on circulating levels of hydroxyproline in the rat". - Federation Proceedings - 1967, 26, 368.

120 - KLEIN (D.C.) - TALMAGE (R.V.)
"Thyrocalcitonin suppression of hydroxyproline release from bone". Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1968, 127, 95.

121 - KLOTZ (H. P.) - DELORME (M. L.) - BLAHOS (J.)
"L'épreuve d'hypercalcémie provoquée, épreuve d'exploration de la secrétion en thyrocalcitonine". - Cah. Coll. Med. Hôp. Paris 1967, 8, 255.

122 - KLOTZ (H. P.) - BLAHOS (J.) - DELORME (M. L.)
"Exploration de la fonction thyrocalcitonine dans les thyréopathies par l'épreuve d'hypercalcémie". - Sem. Hôp. Paris 1967, 43, 2920.

123 - KLOTZ (H. P.)
"Quelques tests dynamiques dans l'exploration du métabolisme calcique". - La revue de Médecine - 1968, N° 4, 767.

124 - KLOTZ (H. P.) - BLAHOS (J.) - DELORME (M. L.) - KANOVITCH (D.)
"Les troubles du métabolisme calcique dans les affections thyroïdiennes". - Amer. Endocr. Paris - 1968, 29, 624.

125 - KRACHT (J.) - HACHMEISTER (U.) - KRUSE (H.) - MATTHAES (P.)
"C cells in the human thyroid gland". - Verm. Deutsch. Ges. Path. - 1968, 52, 485.

126 - KRANE (S. M.) - BROWNELL (G. L.) - STANBURY (J. B.) - CORRIGAN (H.)
"The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man". J. Clin. Invest. - 1956, 35, 874.

127 - KROON (D. B.)
"The macrothyrocytes as a functional stage of the thyroid cells". Acta Anat. - 1958, 33, 76.

128 - KUMAR (M. A.)
"Thèse université de Londres - 1964.

129 - KUMAR (M. A.) - FOSTER (G. V.) - MacINTYRE (I.)
"Further evidence for calcitonin (a rapid acting hormone which lowers plasma calcium). - Lancet - 1963, ii, 480.

130 - KUMAR (M.A.) - SLACK (E.) - EDWARS (A.) - SOLIMAN (H.A.) BAGHDIANTZ (A.) - FOSTER (G.V.) - Mac INTYRE (I.)
"A biological assay for calcitonin". - J. Endocrinol. - 1965, 33 469.

131 - KUMAR (M.A.) - STURTRIDGE (W.C.) - JOWSEY (J.) - WASE (W.A.)
"Chronic calcitonin deficiency". - In "Calcitonin and the "C" cells" - Proceedings of the Symposium on thyrocalcitonin and the C Cells - Ed. by Heinemann London - 1967, p. 322.

132 - KUROSUMI (K.)
"Electron microscopic analysis of the secretion mechanism". - Int. Rev. Cytol. - 1961, 11, 1-124.

133 - LENGEMANN (F.W.)
"Effects of thyroxine upon strontium and calcium metabolism of embryonic bone grown "in vitro". - Endocr. - 1962, 70, 774.

134 - LOGAN (M.A.) - CHRISTENSEN (W.R.) - KIRKLIN (J.W.)
"Thyroid and parathyroid hormone effects on calcium and phosphorus metabolism". - Amer. J. Physiol. - 1941, 135, 419.

135 - LOWE (C.E.) - BIRD (E.D.) - THOMAS (W.C.)
"Hypercalcemia in myxœdema". - J. Clin. Endocr. - 1962, 22 261.

136 - De LUCA (H.F.) - MORII (H.) - MELANCON (M.J. Jr)
"The function of vitamin D and its relationship to parathyroid hormone and calcitonin". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium Ed by Taylor - Foster. Heinemann London 1969, p. 205.

137 - LUCIANO (L.) - REALE (E.)
"Elektronenmikroskopische beobachtungen an parafollikulären zellen der rattenschilddrüse. - Z. Zellforsch. - 1964, 64, 751.

138 - LUDWIG (K.S.)
"Beiträge zur Schilddrüsenstruktur. II : Gibt es "inter-oder para follikuläres. Epithel in der Schilddrüse?" - Acta Anat. 1953, 19 28.

139 - LUPULESCU (A.) - PETROVICI (A.)
"Electron microscopy of the thyroid tumors induced by iodine deficiency in rats". - Fol. Endocr. - 1963, 16, 105.

140 - LUPULESCU (A.) - PETROVICI (A.)
"The fine structure of thyroid tumors induced by low iodine diet in rats". - Acta. Anat. - 1964, 57, 294.

141 - MacINTYRE (I.) - PARSONS (J.A.)
"Blood bone calcium equilibrium in the perfused cat tibia and the effect of thyroid calcitonin". - J. Physiol. London - 1966, 183, 131.

142 - MacINTYRE (I.) - PARSONS (J.A.) - ROBINSON (C.J.)
"The effect of thyrocalcitonin on blood bone calcium equilibrium in the perfused tibia of the rat". - J. Physiol. 1967, 191, 393.

143 - MacINTYRE (I.)
"Human calcitonin : practical and theoretical consequences". - in : "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium". - Ed. Taylor - Foster. Heinemann London - 1969. p. 1.

144 - Mc LEAN (F.C.) - URIST (M.R.)
"Bone : an introduction to the physiology of skeletal tissue". - University of Chicago Press. Chicago 1957.

145 - MALMQUIST (E.) - ERICSON (L.E.) - ALMQUIST (S.) - EKHOLM (R.)
"Granulated cells, uptake of amine precursors, and calcium lowering activity in the ultimobranchial body of the domestic fowl . J. Ultrastruct. Res. - 1968, 23, 457.

146 - MARINE (D.)
in "Special cytology" - Hoeber New-York. 1932, 2, 797.

147 - MARTIN (T.J.) - ROBINSON (C.J.) - MacINTYRE (I.)
"The mode of action of thyrocalcitonin". - Lancet - 1966, 2, 900.

148 - MATHIEU (H.) - HABIB (R.) - CUISINIER (P.) - MULLER (P.) ROYER (P.)
"Nephrocalcinose du rat éthyroïdé à la naissance par ^{131}I." - Rev. Franç. d'Etudes Clin. et Biol. 1961, 6, 657.

149 - MATRAJT (H.) - BORDIER (Ph.) - TUN-CHOT (S.) - HIOCO (D.) FOSTER (G.V.) - DOYLE (F.H.)
"Histological changes produced by calcitonin." - In "Calcitonin" Proceedings of the symposium of thyrocalcitonin and the "C" cells. Ed. by Taylor - Heinemann London - 1967, p. 338.

150 - MATSUZAWA (T.)
"Experimental morphological studies on the parafollicular cells of the rat thyroid gland with special reference to the source of TC." Arch. Histol. Jap. - 1966, 27, 521.

151 - MATZUZAWA (T.) - KUROSUMI (K.)
"Morphological changes in the parafollicular cells of the rat thyroid glands after administration of calcium shown by electron microscopy". - Nature, 1967, 927, 213.

152 - Van MIDDLESWORTH (L.)
"Iodine metabolism in the hyperplastic hamster thyroid". - In "Current topics in thyroid research" - Academic Press New York - 1965 p. 229.

153 - MILHAUD (G.) - REMAGEN (W.) - GOMES de MATOS - AUBERT (J.P.)
"Etude du métabolisme du calcium chez le rat à l'aide du ^{45}Ca. I. Le rachitisme expérimental". - Rev. Franç. et Clin. et Biol. - 1960, V, 254.

154 - MILHAUD (G.) - MOUKHTAR (M.S.)
"Hypophysectomy and thyrocalcitonin". - C.R. Acad. Sci. - 1965, 260, 3179.

155 - MILHAUD (G.) - PERAULT-STAUB (A.M.) - MOUKHTAR (M.S.)
"Etude du mécanisme d'action de la calcitonine". - C.R. Acad. Sci. Paris - 1965, 261, 813.

156 - MILHAUD (G.) - MOUKHTAR (M.S.)
"Antagonistic and synergistic actions of thyrocalcitonin and parathyroid hormone on the levels of calcium and phosphate in the rat." - Nature - 1966, 211, 1186.

157 - MILHAUD (G.) - MOUKHTAR (M.S.)
"Thyrocalcitonin : effects on calcium kinetics in the rats". - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1966, 123, 207.

158 - MILHAUD (G.) - MOUKHTAR (M.S.) - CHERIAN (G.) - PERAULT-STAUB (A.M.)
"Effet de l'administration de calcitonine sur les principaux paramètres du métabolisme du calcium du rat normal et du rat thyroparathyroïdectomisé". - C.R. Acad. Sci. Paris - 1966, 262, 511.

159 - MILHAUD (G.) - MOUKHTAR (M.S.)
"Antagonistic and synergistic actions of thyrocalcitonin and parathyroid hormone on the levels of calcium and phosphate in the rat". - Nature London - 1966, 211, 1186.

160 - MILHAUD (G.) - LI TSIEN MING - MOHSEN (S.) - MOUKHTAR (M. S.)
"Synergie et antagonisme de la thyroxine, de la parathormone et de la thyrocalcitonine sur la calcémie et la phosphatémie". C.R. Acad. Sci. Paris - 1967, 264, 846.

161 - MILHAUD (G.) - PERRAULT-STAUB (A.M.)
"Surcharge en calcium, thyrocalcitonine et catabolisme osseux". C.R. Acad. Sci. Paris - 1968, 266, 1410.

162 - MITTLEMAN (R.) - CHAUSMER (A.) - BELLAVIA (J.) - WALLACH (S.)
"Thyrocalcitonin activity in hypercalcemia produced by calcium salts, parathyroid hormone and vitamine D". - Endocr. 1967, 81, 599.

163 - MORRII (H.) - TALMAGE (R.V.)
"Effect of iodine deficiency on thyrocalcitonin secretion". - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. - 1966, 122, 382.

164 - MOSELEY (J.M.) - MATTHEWS (E.W.) - BREED (R.H.) - GALANTE (L.) - TSE (A.) - Mac INTYRE (I.)
"The ultimobranchial origin of calcitonin". Lancet - 1968, 7534 108.

165 - NEHER (R.) - KAHNT (W.)
"Studies on the purification of alpha and beta thyrocalcitonin". - in "Calcitonin". - Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C cells. Ed. Taylor. Heinemann London - 1967, p. 57.

166 - NEHER (R.) - RINIKER (B.) - MAIER (R.) - BYFIELD (P.G.H.) GUDMUNDSSON (T.V.) - Mac INTYRE (I.)
"Human calcitonin". - Nature - 1968, 220, 984.

167 - NEHER (R.) - RINIKER (B.) - RITTEL (W.) - ZUBER (H.)
"Menschliches Calcitonin. III Struktur von Calcitonin M and D". - Helv. Chim. Acta. - 1968, 51, 1900.

168 - NISBET (J.) - NORDIN (B.E.C.)
"Thyrocalcitonin inhibition of bone resorption in tissue culture". in "Calcitonin" - Proceedings of the Symposium on thyrocalcitonin and the C cells. Ed. Heinemann London - 1967, p. 230.

169 - NOBLE (H.M.) - MATTY (A.J.)
"The effect of thyroxine on the movement of calcium and inorganic phosphate through the small intestine of the rat". - J. Endocr. 1967, 37, 111.

170 - NONIDEZ (J.F.)
"The origin of the parafollicular cell, a second epithelial component of the thyroid gland of the dog". - Amer. J. Anat. - 1932, 49 479.

171 - NONIDEZ (J.F.)
"Further observations on parafollicular cells of mammalian thyroid". - Anat. Rec. - 1932, 53, 339.

172 - NONIDEZ (J.F.)
"Parenchymatous "cells of Baber", protoplasmareichen Zellen" of Huerthle and "parafollicular" cells of mammalian thyroid". Anat. Rec. - 1933, 56, 131.

173 - NUNEZ (E.A.) - GOULD (R.P.)
"Observations on the fine structure of bat thyroid glands in different periods of seasonal activity". J. Anat. - 1967, 101, 617.

174 - PAK (C.Y.C. - RUSKIN (B.) - CASPER (A.)
"Renal effects of thyrocalcitonin". - In "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. Ed. Taylor Foster. Heinemann London - 1969, p. 154.

175 - PARSON (J.A.) - ROBINSON (C.J.)
"Studies of the effects of parathyroid hormone and calcitonin on the isolated perfused bone". - Calcif. Tissue Res. - 1968 Suppl. 19.

176 - PAYNE et CHAMINGS
"dans : Thèse d'Université de CHERIAN (A.G.) - Paris 1964

177 - PEARSE (A.G.E.)
" 5-Hydroxytryptophan uptake by dog thyroid "C" cells and its possible significance in polypeptide hormone production". - Nature 1966 (b) - 211, 598

178 - PEARSE (A.G.E.)
"The cytochemistry of the thyroid C cells and their relationship to calcitonin". - Proc. R. Soc. B. - 1966 a, 164, 478.

179 - PEARSE (A.G.E.)
"Common cytochemical properties of cells producing polypeptide hormones, with particular reference to calcitonin and thyroid C cells". - Vet. Rec. - 1966, 79, 587.

180 - PEARSE (A.G.E.)
"Common cytochemical and ultrastructural characteristies of cells producing polypeptide hormones (the APUD series) and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin". - Proc. Roy. Soc. Biol. - 1968, 170, 71.

181 - PEARSE (A.G.E.)
"The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone producing cells of the APUD series". - J. of Histochemistry and Cytochemistry - 1969, 17, 5-303.

182 - PEARSE (A.G.E.)
"Cytochemical evidence for random-coil conformation in the protein precursors of polypeptide hormones". - Nature - 1969, 221.

183 - PEARSE (A.G.E.) - WELSCH (U.)
"Ultrastructure characteristics of the thyroid C cells in the summer". - Z. Zellforsch. Mikr.. Anat. Dth- 1968, 92, 4, 596.

184 - PHILLIPO (M.) - HINDE (F.)
"Age and sex as factors in the response to thyrocalcitonin". - in "Calcitonin" - Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C cells. Ed. Taylor - Heinemann London, 1967, p. 25.

185 - PONSE (K.) - ALTSCHULER (H.)
"Histophysiologie de l'activation thyroïdienne". - Arch. Anat. Hist. et Embryol. - 1938, 39, 1.

186 - POTTS (J.T. Jr) - REISFELD - HIRSCH - WASTHED - VOELKEL MUNSON.
"Purification of porcine TC." - Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A 1967, 58-1, 328.

187 - POTTS (J.T. Jr) - NIALL (H.D.) - KEUTMANN (H.T.) - BREWER (H.B.) - DEFTOS (L.J.)
"The amino acid sequence of porcine thyrocalcitonin". - Proc. Nat. Acad. Sci. - 1968, 59, 1321.

188 - POTTS (J.T Jr) - NIALL (H.D.) - KEUTMANN (H.T.) - DEFTOS (L.J.) - PARSONS (J.A.)
"Calcitonin : recent chemical and immunological studies". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. Ed. Taylor. Foster - Heinemann London - 1969, p. 56.

189 - PUTTER (I.)
"Isolation and properties of thyrocalcitonin". - J. Amer. Chem. Soc. - 1967, 89, 5301.

190 - RAISZ (L.G.) - AU (W.Y.W.) - FRIEDMAN (J.) - NIEMANN (I.)
"Thyrocalcitonin and bone resorption studies employing a tissue culture bioassay". - Amer. J. Med. - 1967, 43 n° 5, 684.

191 - RAISZ (L.G.) - AU (W.Y.W.) - FRIEDMAN (J.) - NIEMANN (I.)
"Inhibition of bone resorption in tissue culture by thyrocalcitonin" in "Calcitonin" - Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C cells. Ed. Taylor. Heinemann London - 1967, p. 222.

192 - RAISZ (L.G.) - BRAND (J.S.) - AU (W.Y.W.) - NIEMANN (I.)
"Interactions of parathyroid hormone and thyrocalcitonin on bone resorption in tissue culture". - In "Parathyroid hormone and Thyrocalcitonin". Proc. of IIIrd Parathyroid conference. Ed. Talmage. Belanger. Excerpta Medica Foundation - 1968, P. 370.

193 - RASMUSSEN (H.)
"Parathyroid hormone. Nature and mechanism of action". - Amer. J. Med. - 1961, 30, 112.

194 - RASMUSSEN (H.) - ANAST (C.) - ARNAUD (C.)
"Thyrocalcitonin and phosphate metabolism". - Program of the 48th meeting of the endocrine society - Chicago - 1966 - Abstr n° 86.

195 - RAY (R.D.) - SIMPSON (M.E.) - LI (C.H.) - ASLING (C.W.) - EVANS (H.M.)
"Effect of the pituitary growth and of thyroxin on growth and differentiation of the skeleton of the rat thyroidectomized at birth". - Amer. J. Anat. - 1950, 86, 479.

196 - RAY (R.D.) - ASLING (C.W.) - WALKER (D.G.) - SIMPSON (M.E) LI (C.H.) - EVANS (H.M.)
"Growth and differentiation of the skeleton in thyroidectomized hypophysectomized rats treated with thyroxin, growth hormone, and the combination". - J. Bone and joint surg. - 1954, 36, A : 94.

197 - REYNOLDS (J.J.) - DINGLE (J.T.) - GUDMUNDSSON (T.V.) - Mac INTYRE (I.)
"Bone resorption in vitro and its inhibition by calcitonin". - in "Calcitonin" - Proceedings of the symposium on the thyro-calcitonin and C cells. Heinemann London - 1967, P. 222.

198 - REYNOLDS (J.J.)
"Inhibition by calcitonin on bone resorption induced in vitro by Vit. A" - Proc. R. Soc. BGD - 1968, 170 n° 1013, 61.

199 - REYNOLDS (J.J.) - DINGLE (J.T.)
"Time . course of action of TC on resorbing mouse bones in vitro". - Nature 1968, 218, n° 5147, 1178.

200 - RICHARD (J.B.) - INGBAR (.S.H)
"The effects of propythiouracil and perchlorate on the biogenesis of thyroid hormone". - Endocr. - 1959, 65, 198.

201 - RITTEL (W.) - BRUGGER (M.) - KAMBER (B.) - RINIKER (B.) SIEBER (P.)
"Thyrocalcitonin III. Die totalsynthese des α-thyrocalcitonins". Helv. Chim. Acta - 1969, 52, 1058.

202 - ROBERTSON (D.R.)
"Calcium and phosphorus excretion in thyrotoxicosis and myxœdema". - Lancet - 1942, I, 672.

203 - ROBERTSON (D.R.)
"The ultimobranchial body in "Rana pipiens" - IX Effects extirpation and transplantation on urinary calcium excretion". - Endocr. - 1969, 84, 1174.

204 - ROBERTSON (D.R.)
"The role of the Amphibian ultimobranchial gland on sites of calcium mobilization". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second International symposium. Ed. by Taylor. Foster - Heinemann London 1969, p. 311.

205 - ROBINSON (C.J.) - MARTIN (T.J.) - Mac INTYRE (I.)
"Phosphaturic effect of thyrocalcitonin". - Lancet - 1966, 2, 83-

206 - ROBINSON (C.J.) - MARTIN (T.J.) - MATTHEWS (E.W.) - Mac INTYRE (I.)
"Mode of action of thyrocalcitonin". - J. Endocr. G.B. - 1967 39 n° 1, 71.

207 - ROYER (P.) - LESTRADET (H.) - HABIB (R.)
"Les hypercalcémies et les néphrocalcinoses au cours du myxœdème congénital. Arch. Fr. Ped. - 1958, 15, 896.

208 - ROYER (P.) - MATHIEU (H.)
"Métabolisme du calcium dans l'insuffisance thyroïdienne humaine et expérimentale". - Sem. Hôp. Paris Path. et Biol. 1962, 10, 1035.

209 - RUSSEL (R.G.G.) - FLEISCH (H.)
"The renal effects of thyrocalcitonin in the pig and dog." - in "Calcitonin" - Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C cells. Ed. Taylor. Heinemann - London 1967, p. 297.

210 - SAITO (H.) - SHIBATA (K.)
"Parafollicular cell in the rat thyroid". - Endocr. Jap. - 1957, 4, 253.

211 - SANDERSON (Ph) - MARSHALL (F.) - WILSON (R.E.)
"Calcium and phosphorus homeostases in the parathyroidectomized dog ; evaluation by means of ethylene - diamine- tetracetate and calcium tolerance test." - J. Clin. Invest. - 1960. 39, 662.

212 - SANDRITTER (W.) - KUMMER (E.) - PILLAT (G.) - ROWE (L.)
"Zur histochemic und funktion der parafollikulären zellen inder schilddrüse." - Klin. Wschr. - 1956, 34, II, 871.

213 - SARKA (S.K) ISLER (H.)
"Origin of the "light cells" of the thyroid gland". - Endocr. 1963, 73, 199.

214 - SATO (T.) - ISHIKAWA (K) - AOI (T.) - KITOH (J.) - SUGIYAMA (S.)
"Electron microscopic observations on the development of the parafollicular cells from the ultimobranchial cyst in the thyroid gland of the mouse". - Folia Anatomica Jap. - 1966, 42, 91.

215 - SAWYER (C.H.) - EVERETT (J.W.)
"Stimulating and inhibiting effects of progesterone on the release of pituitary ovulating hormone in the rabbit". - Endocr. - 1959, 66, 614.

216 - SCHACHTER (D.) - KOMARSKI (S.) - FINKELSTEIN (J.D.) - WANG (R.I.)
"Tissue concentration differences during active transport of calcium by intestine". - Amer. J. Phys. - 1966, 200, 1263.

217 - SCHLUETER (R.J.) - ALFRED (J.P.) - FISHER (J.D.)
"Thyrocalcitonin bioassay characteristics of purified preparations". - Acta Endocr. - 1968, 58, 268.

218 - SHIMODA (S.I.) - GREER (M.A.)
"Effect of graded doses of propylthiouracil on "in vitro" iodoaminoacid synthesis in the rat thyroid gland". - Endocr. - 1966, 78 1165.

219 - SEECOF (D.P.)
"Studies on mitochondria. II. The occurrence of mitochondria rich and mitochondria-poor cells in the thyroid gland of man and animals". - The Amer. J. of Path. - 1927, 3, 365.

220 - SIEBER (P.) - BRUGGER (M.) - KAMBER (B.) - RINIKER (B.) - RITTEL (W.) - MAIER (R.) - STACHELIN (M.)
"Synthesis and biological activity of peptide sequences related to porcine α-thyrocalcitonin". - in "Calcitonin 1969" - Proceedings of the second international symposium. Ed. Taylor. Foster. Heinemann London - 1969, P. 28.

221 - SILBERBERG (M.) - SILBERBERG (R.)
"Changes in the skeletal tissues of mice following the administration of thyroxin". - Growth - 1940, 4, 305.

222 - SLINGERLAND (D.W.) - GRAHAM (D.E.) - JOSEPHS (R.K.) MULVEY (P.F. Jr) - TRAKAS (A.P.) - YAMAZAKI (E.)
"The effect of propylthiouracil on the conversion of monoiodotyrosine to diiodotyrosine". Endocr. - 1959, 65, 178.

223 - SMITH (.R.N) - LALJEE (H.C.)
"Thyrocalcitonin deficiency after treatment of thyroid disorders by surgery or radioiodine". - Brit. Med. J. - 1967, 4, 589.

224 - SOBEL (H.) - BONORRIS (G.) - SIDEMAN (M.)
"Effect of cortisone, thyroxin and cold on femurs of guinea pigs". "Amer. J. Physiol. - 1960, 199, 1087.

225 - SOLCIA (E.) - SAMPIETRO (R.)
"New methods for staining secretory granules and 5-hydroxy-triptamine in the thyroid C Cells". - in "Calcitonin" - Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C Cells. London 1967, p. 128.

226 - SUGIYAMA (S.)
"Studies of the histogenesis of the thyroid gland of the guinea pig". I. Thyroid cells (follicle cells and parafollicular cells)". - Anat. Rec. - 1954, 120, 363.

227 - SUGIYAMA (S.) - SATO (T.)
"Studies of the histogenesis of the thyroid gland of the guinea-pig. 2) Quantitative measurements of the follicles and correlation with function". - Anat. Rec. - 1954, 120, 379.

228 - SUGIYAMA (S.) - KITOH (J.) - YOKOTA (S.)
"On the problem of development of parafollicular cells from the human ultimobranchial body in prenatal life". - Okajimas Folia Anat. Jap. - 1969, 46, 59.

229 - SUNDER - PLASSMANN
"dans : Données histochimiques sur les cellules parafolliculaires de la glande thyroïde du chien par M. GABE." - Acta Anat. 1959, 38, 332.

230 - TAKAGI (K.)
"A cytological study on the dog's thyroid gland". - Okajimas Fol. Anat. Jap. - 1922, 69, 100.

231 - TALMAGE (R.V.) - NEUENSCHWANDER (J.) - KRAINTZ (L.)
"Evidence for the existence of thyrocalcitonin in the rat". - Endocr. - 1965, 76, 103.

232 - TASHIRO (M.)
"Electron microscopic observations of the cyst of ultimobranchial origin found in the thyroid gland of a dog". - Nagoya J. Med. Sc. 1963, 25, 159.

233 - TASHIRO (M.)
"Electron microscopic studies of the parafollicular cells in the thyroid gland of the dog". - Fol. Anat. Jap. - 1964, 39, 191.

234 - TASHJIAN (A.H. Jr)
"Homeostasis of plasma calcium : effects of actinomycin D, parathyroidectomy and thyrocalcitonin". - Endocr. - 1965, 77, 375.

235 - TASHJIAN (A.H.) - MUNSON (P.L.)
"Antibodies to porcine thyrocalcitonin : effects on the hypocalcemic activity of calf-rat and monkey thyroid extracts". - Endocr. 1965, 77, n ° 3, 520.

236 - TASHJIAN (A.H.) - VOELKEL
"Thyrocalcitonin : partition on carboxymethyl sephadex G25 and characterization by disc gel electrophoresis". - Amer. J. Med. 1967, 43/5. 668.

237 - TASHJIAN (A.H. Jr) - WARNOCK (D.R.)
"Stability of the hypocalcemic activity of porcine thyrocalcitonin". Endocr. - 1967, 81 n° 2, 306.

238 - TENENHOUSE (A.) - ARNAUD (C.) - RASMUSSEN (H.)
"The isolation and characterization of Tc". - Proc. Nat. Acad. Sc. - 1965 ,53, 818.

239 - TENENHOUSE (A.) - RASMUSSEN (H.)
"Parathyroid hormone , thyrocalcitonin and ascite tumour cells" in "Parathyroid hormone and thyrocalcitonin (Calcitonin) - Ed. Talmage. Belanger. Excerpta Medica Foundation - 1968, p. 392.

240 - THOMAS (C.) - NATAF (B.) - TUBIANA (M.)
"Etude par la méthode du double marquage de l'action des antithyroïdiens sur l'hormonogénèse chez l'homme et chez le chien". Rev. Fr. et Clin. Biol. - 1967, 12, 467.

241 - THOMPSON (B.) - ISLER (H.) - SARKER (K.)
"Effect of hypophysectomy and growth hormone on the light cells of the thyroid gland". - Endocr. - 1962, 70, 786.

242 - TODD (A.S.) - FOSGATE (O.T.) - GRAGLE (R.G.) - KAMAL (T.H.)
"T.H. parathyroid action on calcium, phosphorus, magnesium and citric acid in dairy cattle". - Amer. J. Physiol. - 1962, 202, 987.

243 - VAES (G.)
"Excretion of acid and of lysosomal hydrolytic enzymes during bone resorption induced in tissue culture by parathyroid extract". Experimental Cell Research. - 1965, 39, 470.

244 - Van DYKE (J.H)
"Behavior of ultimobranchial tissue in the postnatal thyroid gland epithelial cysts, their relation to thyroid parenchyma and to "new-growth" in the thyroid gland of young sheep". - Amer. J. Anat. - 1945, 76, 201.

245 - WASE (A.W.) - PETERSON (A.) - RICKES (E.) - SOLEWSKI (J.)
"Some effects of thyrocalcitonin on the calcium metabolism of the rat". - Endocr. - 1966, 79, 687.

246 - WEGELIN
in : Vergleichende Untersuchungere über die ultimobranchialen Körper - WATZKA (M). - Z. mikr. Anat. Forsch. - 1933, 34, 385.

247 - WELLS (H.) - LLOYD (W.)
"Inhibition of the hypocalcemic action of thyrocalcitonin by theophyllin and isoproterenol". - Endocr. - 1968, 82, 468.

248 - WELSCH (U.) - PEARSE (A.G.E.) - FLITNEY (A.G.E.)
"Comparative studies on the ultrastructure of the thyroid parafollicular C cells". - J. of microscopy - 1969, 89, 1

249 - WELSCH (U.) - PEARSE (A.G.E.)
"Electron cytochemistry of BUCHE and ACHE in thyroid and parathyroid C cells under normal and experimental conditions". Histochemis. Dtsch. - 1969, 17, 1.

250 - WELSCH (U.) - FLITNEY (F.W.) - PEARSE (A.G.E.)
"The fine structural localization of acetylcholinesterase in rabbit thyroid C cells and the effect of uptake of 5-hydroxytryptophan or dihydroxyphenylalanin on their morphology". - In : "Calcitonin" symposium on thyrocalcitonin and C cells. Ed. by Taylor. Heinemann London - 1967, p. 167.

251 - WILSON (G.E.)
"The thyroid follicle in man : its normal and pathological configuration". - Anat. Rec. - 1927/28, 7, 419.

252 - WISSIG (S.L.)
"The fine structure of parafollicular (light) cells of the rat thyroid gland". - In : "Proceeding of the fifth international congress for Electron microscopy. Ed. Breese S.S. Vol. 2 p. WW1 - New-York Acad. Press. 1962.

253 - YASUMURA (S.) - BURK (M.) - MITTLEMAN (R.) - WALLACH (S.)
"Thyroidal content of thyrocalcitonin in hypothyroid and hyperthyroid rat". - Endocr. - 1967, 61, 256.

254 - YOSHIMURA (F.) - YONETSU (T.) - NAKAMURA (M.)
"Hormonal regulation of parafollicular cell in the thyroid gland". Endocr. Jap. - 1962, 9, 284.

255 - YOUNG (B.A.) - LEBLOND (C.P.)
"The light cell as compared to the follicular cell in the thyroid gland of the rat". - Endocr. - 1963, 73, 669.

256 - YOUNG (B.A.)
"Cell types in the mammalian thyroid gland". - Int. Rev. Gen. Exp. Zool. - 1967, 3.

257 - YOUNG (B.A.) - CARE (A.D.) - DUNCAN (T.)
"Some observations on the light cells of the thyroid gland of the pig in relation to TC production". - J. Anat. 1968, 102, 275.

258 - ZIEGLER (R.) - PFEIFFER (E.F.)
"The effect of exogenous and endogenous thyrocalcitonin on phosphaturia". - In "Calcitonin". Proceedings of the symposium on thyrocalcitonin and the C cells. Ed. Taylor - Heinemann London 1967 p. 290.

Vu et permis d'imprimer.

Bordeaux, le 10 Septembre 1970

Le Doyen de la Faculté des Sciences
J. VALADE.

Président du Conseil transitoire
de Gestion.